
ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. METCHNIKOFF.

SUR

LA VITESSE DE LOCOMOTION DU VIBRION CHOLÉRIQUE

par le Professeur G. SANARELLI

Directeur de l'Institut d'Hygiène de l'Université de Rome.

En observant, à l'ultra-microscope, dans une goutte suspendue, des germes mobiles, on reste frappé non seulement par la forme des trajectoires qui diffèrent selon les espèces bactériennes, mais aussi par la différence, souvent notable, des vitesses.

Les uns se déplacent presque indolemment, les autres se meuvent avec agilité dans une direction ou dans l'autre; il y en a enfin qui traversent le champ du microscope avec une telle vitesse, qu'ils donnent l'impression d'une flèche se décrochant de son arc.

On peut naturellement calculer, d'une manière approximative, la vitesse moyenne de chaque espèce bactérienne, si l'on a le soin de suivre dans une goutte suspendue contenant peu de germes les individus qui, entrant à un moment donné dans le champ microscopique, le parcourent presque diamétralement jusqu'au point opposé. On peut déterminer ainsi, avec un compteur à la main, la durée de la traversée.

Peu d'auteurs se sont occupés de la mobilité des bactéries.

Le premier, M. GABRITSCHESKY (1), non seulement a introduit des dispositifs techniques appropriés, mais a étudié la mobilité en relation avec la température, l'âge des cultures, la nature des milieux, l'addition de différentes substances, etc.

MM. LEHMANN et FRIED (2) et, peu après, M. STIGELL (3), parmi les données fournies par M. GABRITSCHESKY, ont fixé leur attention particulière sur la vitesse de certains vibrions, d'une mobilité exceptionnelle : elle serait de $0^{\text{mm}}1$ à $0^{\text{mm}}2$ par seconde.

M. STIGELL, qui a étudié systématiquement, à ce point de vue, beaucoup de germes, a obtenu pour le vibron cholérique des valeurs constamment plus basses : au maximum de $0^{\text{mm}}08$ par seconde. MM. LEHMANN et FRIED ont enregistré des vitesses plus fortes que celles signalées par M. STIGELL, mais toujours inférieures à $0^{\text{mm}}1$ $0^{\text{mm}}2$.

Les données de M. GABRITSCHESKY laissaient, cependant, encore des doutes. Eh bien, je possède des exemplaires de vibrions cholériques dont la vitesse est égale à celle, certainement exceptionnelle, qui a été signalée par ce savant.

Mes observations — renouvelées bien des fois — ont été faites à la température ambiante de 25 C. environ, avec des cultures âgées de vingt-quatre heures, développées sur agar et ensuite délayées dans du bouillon ou, de préférence, dans du sérum de cobaye.

J'ai fait des expériences avec les différentes souches vibroniennes qui sont connues dans les laboratoires sous les noms de vibrions de Hambourg, Constantinople, Saint-Petersbourg, Rome, Marseille, Isonzo, Naples, Palerme, Massaouah, de la Prusse Orientale, etc., et j'ai trouvé que, à peu près, tous les vibrions cholériques possèdent la même vitesse de locomotion. Le vibron de Massaouah m'est apparu un peu moins rapide que les autres. Complètement immobiles étaient devenus ceux de Saint-Petersbourg et de la Prusse Orientale, dont le pouvoir toxique peut être considéré aujourd'hui comme insignifiant :

(1) Ueber active Beweglichkeit der Bakterien. *Zeits. f. Hygiene u. Infektionskr.*, vol. XXXV, 1900, p. 104.

(2) Beobachtungen über die Eigenbewegung der Bakterien. *Archiv f. Hygiene*, vol. XLVI, 1903, p. 344.

(3) Ueber die Fortbewegungsgeschwindigkeit und Bewegungskurven einiger Bakterien. *Centralbl. f. Bakt., I. Abt. Orig.*, vol. XLV, 1908, p. 289.

j'ai dû, en effet, injecter six cultures dans le péritoine pour tuer des cobayes de 300 grammes !

Les vibrions cholériques se montrent toujours bien plus mobiles dans le sérum frais de cobaye, que dans le bouillon de viande. Pour cela, mes déterminations sur la vélocité ont été faites dans le sérum et toujours à l'ultra-microscope.

Ce n'est pas mon intention d'étaler des chiffres ; je voudrais simplement établir si la vitesse du vibrion cholérique peut être comparée avec celle d'animaux ou d'objets mobiles, tels qu'ils se présentent au regard dans la vie quotidienne. C'est là une question qui est bien loin d'être superflue, ni si simple qu'elle en a l'air au premier abord, surtout lorsqu'on veut trouver une comparaison convenable et compatible avec les principes de la physique et de la physiologie.

MM. LEHMANN et FRIED ont envisagé ce problème et ils ont remarqué que les chiffres se rapportant à la vélocité des bactéries sont loin de représenter exactement la rapidité de leur mouvement de translation. Cela est si vrai que, à la fin de leur note, ils font observer qu'on peut avoir une idée qui s'approche davantage du réel en ayant recours au rapport entre l'espace parcouru, par un microbe donné, dans l'unité de temps et la longueur de son corps. Afin de développer cette idée, ils prennent divers exemples, tels que celui de l'hirondelle qui parcourt une longueur 45 fois plus grande que son corps, celui du cheval qui, dans sa carrière, parcourt, dans une seconde, un espace 10 fois plus grand que son corps, etc.

Il suffit, pour démontrer combien l'usage de tels chiffres est fallacieux pour représenter les impressions des vitesses, d'une simple remarque :

Si le cheval, en pleine course, passe à 4-5 mètres devant nos yeux, et si l'hirondelle vole à quelques centaines de mètres de distance, ce sera la course du cheval qui nous semblera plus rapide, non le vol de l'hirondelle, car celle-ci mettra beaucoup plus de temps à traverser le champ visuel.

Il est évident, dans ce cas, que la mesure entre nos impressions ne peut pas être donnée par le rapport 45 : 10. Les comparaisons auxquelles MM. LEHMANN et FRIED ont recours ne sont donc pas acceptables.

Afin de donner une idée de la vitesse des bactéries, telle que

nous pouvons l'apprécier à l'ultra-microscope, il faut recourir à d'autres considérations.

Pour mes observations j'ai fait usage d'un agrandissement de 800 diamètres.

Avec ce système le diamètre apparent du champ du microscope est de 200 millimètres et le diamètre réel, mesuré avec un micromètre objectif, est de $0^{\text{mm}}25$. En observant plusieurs fois, en goutte suspendue, des vibrions très mobiles, j'ai remarqué que la plupart de ces microbes parcourent le diamètre du champ microscopique en deux secondes environ. Leur vitesse moyenne apparente est, par conséquent, égale au rayon du champ-image, c'est-à-dire 10 centimètres par seconde, et la vitesse réelle correspondante est de $0^{\text{mm}}125$ par seconde, c'est-à-dire de 75 millimètres à la minute, ce qui correspond à 45 centimètres à l'heure, tandis que leur vitesse apparente est de 10 cm. \times 60, c'est-à-dire de 6 mètres à la minute : ce qui fait 360 mètres à l'heure.

Néanmoins, ni la première, ni la seconde de ces expressions ne nous donnent la plus lointaine idée de la vitesse vertigineuse du vibrion, dont l'œil reste frappé au microscope. C'est qu'en effet l'impression de vitesse ne dépend pas de la *vitesse effective*, mais bien de la *vitesse angulaire*.

Cela posé, représentons dans la figure ci-contre le diamètre de l'image du champ du microscope (qui mesure, comme il a été dit, 20 centimètres) par le segment AB; menons par le point moyen de AB la perpendiculaire OM, dont la longueur soit à celle de AB, comme 25 centimètres (distance de la vision distincte) sont à 20 centimètres. Prolongeons OA, OB, OM et menons la perpendiculaire OM en M', la longueur OM' étant à OM comme 4.000 centimètres (c'est-à-dire 40 mètres), longueur que nous choisissons arbitrairement, sont à 25 centimètres. A' et B' seront les points d'intersection de la dite perpendiculaire avec les côtés de l'angle.

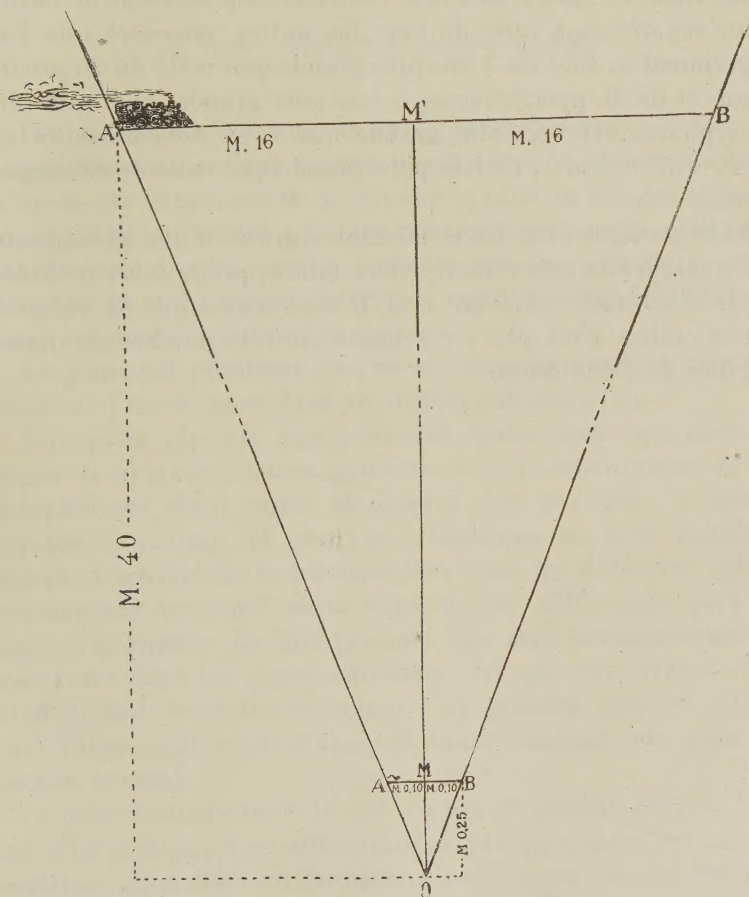
Supposons que le vibrion entre dans l'angle visuel en A, dans le même temps qu'une locomotive y entre au point A', et que l'un et l'autre se meuvent uniformément, de façon qu'à l'instant où le vibrion quitte l'angle visuel, après avoir parcouru le trait AB, la locomotive disparaisse en B'. Le vibrion et la locomotive auront deux vitesses effectives bien différentes,

mais l'impression que nous aurons reçue de ces vitesses sera identique, les vitesses *angulaires* étant les mêmes.

Les triangles OAM et OA'M' étant semblables, on a :

$$AM' : OM' = AM : OM.$$

$$AM' = \frac{4.000 \times 10}{25} = 1.600 \text{ centimètres} = 16 \text{ mètres.}$$



Nous pouvons donc conclure que le vibrion se meut approximativement avec une vitesse telle, qu'on peut la comparer à celle d'un train qui passe devant nous à la distance de 40 mètres, en parcourant 16 mètres à la seconde. Un tel train a une vitesse de 960 mètres à la minute, c'est-à-dire de

57 kilomètres 600 à l'heure. Telle est l'expression vraiment appropriée pour représenter l'impression qu'on reçoit au microscope de la vitesse extraordinaire du vibron. C'est une expression qui satisfait complètement les exigences de notre sens visuel.

Le vibron cholérique a une vitesse de déplacement de beaucoup supérieure à celle de tous les autres microbes que j'ai expérimentés. Elle est 3 fois plus grande que celle du *B. prodigiosus* et du *B. pyocyaneus*, 5 fois plus grande que celle du *B. typhique*, 10 fois plus grande que celle du colibacille et du *Proteus vulgaris*, 12 fois plus grande que celle du *B. megatherium*, etc.

Puisque toutes ces bactéries sont fournies d'une quantité de cils quelquefois très remarquable, tandis que le vibron cholérique d'habitude en a un seul, il faut croire que la vélocité des microbes n'est pas en relation avec le nombre de leurs organes de locomotion.

HÉRÉDITÉ, ACCOUTUMANCE ET VARIABILITÉ DANS LA FERMENTATION LACTIQUE

par HENRY CARDOT et CHARLES RICHEL.

Les problèmes abordés dans le présent mémoire sont si complexes que, malgré de très nombreuses expériences, nous n'avons pas la prétention de donner ici plus qu'une ébauche. Il nous paraît cependant qu'il pourra résulter de notre étude des conclusions d'ordre pratique et des aperçus nouveaux, intéressants au point de vue théorique, relativement à l'hérédité et aux phénomènes d'accoutumance.

Le principal problème que nous avons en vue ici a déjà été posé par l'un de nous dans un travail antérieur (1).

Lorsqu'on répartit, par quantités égales, dans une série de tubes semblables, toutes conditions d'ensemencement et de température étant aussi identiques que possible, le même liquide de culture, et que l'on détermine, au bout du même temps, l'activité de la fermentation dans les différents tubes, on constate toujours, entre ceux-ci, des différences plus ou moins marquées. Le fait très net, qui sera surabondamment démontré dans les pages suivantes, est que ces irrégularités sont presque toujours beaucoup plus grandes dans un milieu de culture additionné d'une substance toxique que dans un milieu normal.

A notre connaissance, le fait n'a pas été signalé encore. Tout au plus peut-on, à ce sujet, trouver quelques rares indications relatives à des cas particuliers. Ainsi Sauton (2), en étudiant l'action de l'argent sur le bacille tuberculeux, a constaté que parfois les microbes fournissent une abondante végétation en

(1) CH. RICHEL. La fermentation lactique et les sels de thallium. Étude sur l'hérédité. Ces *Annales*, t. XXXI, p. 51-59, février 1917.

(2) B. SAUTON. Sur l'action antiseptique de l'or et de l'argent. *C. R. Soc. de Biologie*, t. LXXIV, p. 1268, 14 juin 1913.

présence d'une dose d'argent ordinairement empêchante. Des irrégularités analogues ont été constatées dans l'action de l'argent sur l'*Aspergillus* (1).

Nous décrivons avec quelques détails la technique suivie dans nos expériences, technique qui nécessite, pour donner des résultats corrects, l'observance rigoureuse d'un certain nombre de précautions essentielles.

TECHNIQUE

Le milieu utilisé a été, sauf quelques exceptions que nous signalerons, du petit-lait stérilisé pendant une vingtaine de minutes à 110°-112°. Lorsqu'il est impossible, par suite de la pénurie de lait, de préparer en une seule opération une grande masse de liquide, les différents échantillons successivement obtenus ne sont pas absolument identiques, par suite de la diversité des laits, et par le fait aussi que la manipulation ne peut jamais être faite d'une façon invariable. D'un ballon à l'autre, on peut constater des variations notables dans l'acidité du milieu et également dans la quantité de lactose caramélisée lors de la stérilisation. Pour éviter des inconvénients de cet ordre, nous avons pris l'habitude de réunir et de brasser dans un même récipient le contenu de nos ballons, dès que la quantité de petit-lait préparée atteignait au total une trentaine de litres. On obtient ainsi une importante masse de petit-lait qui, répartie à nouveau en ballons et stérilisée, permet d'effectuer une longue série d'expériences avec un milieu de composition bien constante.

Comme semence, nous avons utilisé un ferment sélectionné à partir du lait caillé, cultivé depuis plusieurs mois sur petit-lait et réensemencé au fil de platine toutes les vingt-quatre ou toutes les quarante-huit heures, avec les précautions habituelles d'asepsie. Des examens microscopiques fréquents permettaient de contrôler la pureté de cette semence, constituée par des formes assez courtes, peu polymorphes.

L'ensemencement de nos séries à partir de ces cultures pures n'a pas été fait en général à l'aide du fil de platine, sauf dans quelques cas où la technique minutieuse ordinairement suivie dans les manipulations bactériologiques a été observée. Les expériences faites selon cette dernière méthode ont été, toutefois, assez nombreuses pour nous donner l'assurance que les phénomènes signalés ici se retrouvent dans tous les cas, indépendamment de la technique adoptée.

Lorsque nous nous proposons d'étudier, dans une même expérience, l'action de plusieurs doses d'un même antiseptique, nous procédons de la façon suivante. La dose la plus forte était préparée en ajoutant à un volume déterminé de petit-lait la quantité convenable de la solution antiseptique. Si le titre de cette dernière était assez faible pour que cette addition produise une dilution appréciable du milieu de culture, on ajoutait une quantité correspondante d'eau au petit-lait qui devait servir à la préparation des

(1) J. CODUR et G. THIRY. *Aspergillus* et argent métallique. *C. R. Soc. de Biologie*, t. LXXIV, p. 487, 17 février 1913.

cultures-témoins. C'est en mélangeant en proportions convenables le milieu antiseptisé et le milieu-témoin qu'étaient préparés les milieux toxiques de titres plus faibles.

L'embouteillage des divers liquides dans les tubes de cultures se réalise d'une façon rapide et précise à l'aide de pipettes automatiques (modèles de Dupré et de Berlemont). La répartition était faite ainsi, généralement par masses de 10 cent. cubes, dans des tubes aussi identiques que possible. Après bouchage à l'ouate et stérilisation à l'autoclave, chacun de ces tubes recevait, après refroidissement, une goutte de semence.

Pour les ensemencements, nous employions une petite burette compte-gouttes de précision, d'une contenance de 10 cent. cubes (fig. 1). Cette burette, bouchée à l'ouate à sa partie supérieure, était stérilisée à l'autoclave, puis débouchée un instant pour y verser, avec toutes les précautions nécessaires pour éviter une contamination, le contenu d'un tube de culture pure. Le robinet de la burette est disposé de telle façon qu'on ne peut l'ouvrir, et encore d'une façon incomplète et partielle, qu'en comprimant la butée de caoutchouc A; il se referme alors automatiquement dès qu'on l'abandonne à lui-même. Ce simple dispositif, qui évite toute fausse manœuvre, permet d'ensemencer d'une façon bien constante les tubes, en y faisant tomber, par une rapide manipulation, une goutte de la culture.

Dans les expériences ne comportant qu'une seule dose antiseptique, nous avons adopté une autre technique qui avait l'avantage d'assurer, dans de meilleures conditions peut-être que la précédente, un ensemencement aussi rigoureusement identique que possible des différents tubes.

Le ballon-pipette, représenté par la figure 2, a, sur les pipettes automatiques ordinaires comportant un récipient en verre épais et une poire de caoutchouc, l'avantage de pouvoir facilement être porté à l'autoclave. Pour cette raison, nous croyons qu'il peut rendre d'utiles services pour l'embouteillage des liquides stériles ou des cultures pures (1). Le robinet

R étant placé dans la position I (fig. 2 A), on verse par le tube à entonnoir E un volume convenable du milieu de culture. L'orifice de l'entonnoir et celui du petit réservoir o sont bouchés avec un tampon de coton; le premier est, de plus, recouvert d'un chapeau de papier de même que l'extrémité du tube T. Sans modifier la position du robinet R, afin de laisser une libre communication entre la masse d'air enfermée dans le ballon et l'extérieur, on porte l'appareil à l'autoclave. Après stérilisation et refroidissement, on débouche

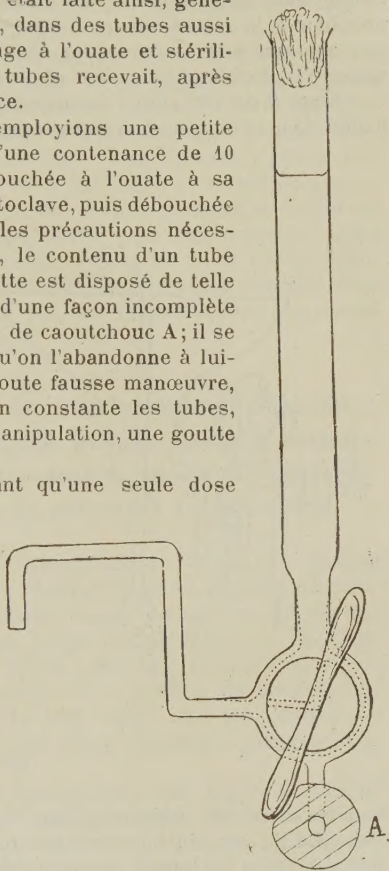


FIG. 1.

(1) H. CARDOT et H. VIGREUX. Pipette automatique pour la répartition des milieux de culture. *C. R. Soc. de Biologie*, t. LXXXI, p. 140, février 1918.

l'entonnoir *E* pendant le court instant nécessaire pour y verser, en prenant toutes les précautions désirables, le contenu d'un tube de sémence pure. Une partie de cette dernière vient se mélanger à la masse du liquide; une autre partie, qui reste dans le tube intérieur *E'*, est inutilisée. Elle est mise hors de cause et s'écoule par l'entonnoir au moment où, après avoir porté le robinet dans la position II, on place l'appareil la tête en bas (fig. 2 B) pour procéder à la répartition en tubes. Au préalable, on agite énergiquement son contenu pour assurer une distribution homogène de la semence. La manœuvre d'embouteillage est alors extrêmement simple : quand on tourne le robinet *R* de 180° pour l'amener dans la position I, le liquide s'écoule du ballon dans la pipette *P*, d'une contenance de 10 cent. cubes. Il la remplit et

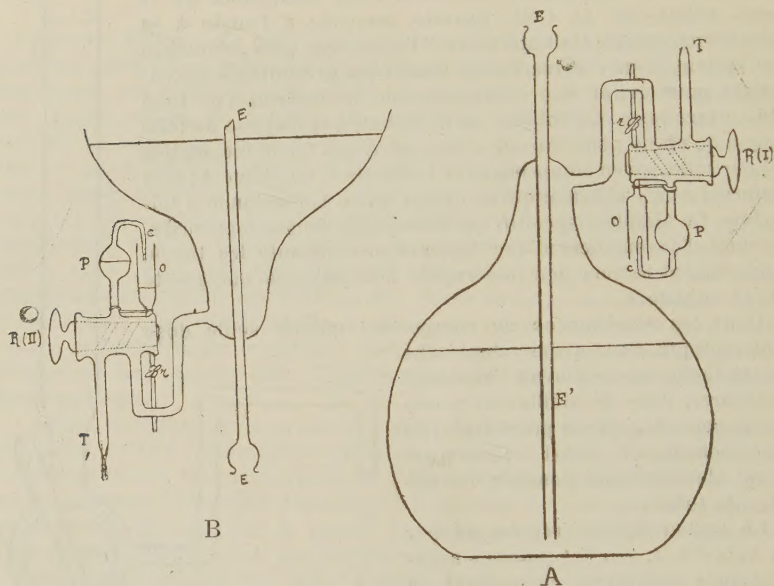


FIG. 2.

se déverse ensuite lentement par le tube fin *c*, fonctionnant comme trop-plein. Le liquide ainsi perdu s'accumule dans le réservoir *o* qui peut être vidé de temps en temps au moyen du robinet *r*; cette perte est d'ailleurs très minime, si l'on prend soin, dès que la pipette *P* est pleine et que le trop-plein fonctionne, de tourner de nouveau le robinet *R* de 180°, ce qui permet l'écoulement des 10 cent. cubes de liquide par le tube *T*. Ce liquide est recueilli dans un tube à essai préalablement bouché à l'ouate et stérilisé au four Pasteur. Dans la préparation d'une expérience, on commence par répartir ainsi le milieu de culture normal dans les tubes qui serviront de témoins : connaissant le volume initial de la masse liquide mise dans le ballon et le nombre de tubes préparés, et ayant mesuré la minime quantité perdue par le trop-plein au cours de la manipulation, on sait quel est le volume restant à l'intérieur du ballon. On calcule alors combien il faut ajouter, à la masse restante, de solution antiseptique titrée pour obtenir la dose toxique que l'on désire; cette addition se fait, après avoir retourné le ballon, exac-

tement comme celle de la semence; pour éviter qu'une partie de l'antiseptique introduit reste à l'intérieur du tube *E'*, il faut exercer dans ce tube une légère pression, à l'aide d'une petite poire de caoutchouc s'adaptant à l'entonnoir, après avoir soigneusement rebouché ce dernier à l'ouate. Il convient de faire usage ici de solutions antiseptiques assez concentrées pour que le liquide nutritif antiseptisé ne subisse pas une dilution appréciable par rapport au liquide-témoin précédemment embouteillé.

Les tubes, remplis et ensemencés par l'une des deux méthodes précédentes, sont placés dans des paniers en fil de fer et portés à l'étuve. Nous avons cherché à réaliser un dispositif mettant les cultures autant que possible à l'abri des variations de température, de telle sorte que le léger refroidissement qui se produit lorsque l'étuve vient à être ouverte n'affecte pas certains tubes plus que d'autres. A cet effet, les séries de tubes, contenues dans des paniers métalliques, étaient placées à l'étuve dans des conserves closes renfermant une quantité d'eau suffisante pour immerger les tubes jusqu'à la moitié de leur hauteur, c'est-à-dire au-dessus de la surface libre de leur contenu. Pour chaque expérience, la température à laquelle s'est effectuée la fermentation et la durée du séjour à l'étuve étaient soigneusement notées.

Nous avons mesuré l'activité du développement microbien dans les divers tubes par la quantité d'acide lactique formée, qui est donnée de la façon la plus simple par un dosage acidimétrique à l'aide d'une solution de potasse à 1,46 p. 1000.

L'indicateur employé a toujours été la phénolphthaléine, ajoutée au moment du dosage à la solution potassique. En opérant ainsi, la quantité de phthaléine est à peu près toujours la même dans chaque dosage, ce qui est une bonne condition pour que les titrages soient comparables. Si l'on juge nécessaire d'opérer le dosage dans un milieu possédant toujours une égale teneur en phthaléine, on peut aussi ajouter à la solution de potasse une goutte de la solution de phthaléine par 10 cent. cubes, soit 100 gouttes par litre et à chaque tube de culture de 10 cent. cubes, également une goutte de phthaléine au moment du dosage.

Le milieu nutritif ayant, avant toute fermentation, une légère acidité, on réserve au début de chaque expérience quelques tubes stérilisés et non ensemencés, sur lesquels on détermine, au moment du dosage, l'acidité initiale qui doit être retranchée des acidités trouvées pour les tubes fermentants. Quand on opère avec des antiseptiques introduisant dans le milieu un supplément d'acidité, il convient naturellement de garder à la fois des tubes témoins et des tubes antiseptisés pour la mesure de l'acidité initiale. Il en est de même avec les substances qui, sans modifier sensiblement le seuil du virage, en altèrent néanmoins la tonalité. Dans ce dernier cas, on se trouve bien, une fois déterminée l'acidité initiale du milieu témoin, de verser dans le tube antiseptisé, qui n'a pas été ensemencé, la quantité de potasse correspondant exactement à l'acidité initiale du témoin. On réalise ainsi deux étalons colorimétriques dont l'un sert au dosage des témoins et l'autre à celui des tubes antiseptisés.

Il est encore une précaution importante à prendre lorsqu'il s'agit de doser un grand nombre de tubes. La fermentation se poursuivant après la sortie

de l'étuve et un intervalle d'une ou deux heures s'écoulant entre le dosage des premiers tubes et celui des derniers, on trouverait, entre les uns et les autres, des différences susceptibles de fausser totalement les résultats. Aussi les paniers de tubes doivent-ils être, dès leur sortie de l'étuve, plongés pendant cinq minutes dans l'eau bouillante, afin d'arrêter partout la fermentation au même instant.

DÉTERMINATION DE L'IRRÉGULARITÉ D'UNE FERMENTATION

Dans les très nombreuses expériences que nous avons faites, les conditions de température, de durée du séjour à l'étuve, d'ensemencement par des quantités plus ou moins abondantes, d'interventions des antiseptiques quant à leur nature et à leur dose, ont été très variables. De ces résultats, nous donnerons d'abord un résumé global, fourni par les moyennes de vastes séries de chiffres, résumé qui posera, en quelque sorte, la question complexe que nous tenterons d'analyser plus loin.

Nous caractérisons la plus ou moins grande régularité avec laquelle s'accomplit la fermentation dans les divers tubes d'un même lot de la façon suivante :

Ayant, pour chacun des tubes d'une série de cinquante, par exemple, dosé l'acidité, que nous exprimons par le nombre de centimètres cubes de la solution potassique qu'il a fallu verser pour obtenir le virage, nous déterminons la moyenne A des acidités trouvées. Le plus souvent, la quantité de potasse versée dans chacun des tubes pris individuellement diffère plus ou moins de A ; elle est égale à $A + \varepsilon$ ou à $A - \varepsilon$: pour chaque tube, il y a, en plus ou en moins, un écart de la moyenne ε . En prenant la moyenne arithmétique de ces nombres $\varepsilon, \varepsilon', \varepsilon'' \dots$, on obtient l'*écart moyen de la moyenne*. Celui-ci est d'autant plus grand que les tubes sont plus hétérogènes au point de vue de l'acidité.

Des irrégularités constatées, une partie relève naturellement de l'imperfection inévitable de la technique, et de l'opérateur lui-même : par exemple, au moment de l'embouteillage du milieu de culture, la pipette n'a pas versé dans chacun des tubes exactement 10 cent. cubes ; l'un a reçu une goutte en trop, l'autre, une en moins ; au dosage, on n'a peut-être pas toujours pris exactement la même teinte de virage. Il est facile d'évaluer la grandeur de ces causes d'erreur par quelques expériences préliminaires.

a) A une masse de liquide de culture rendu infermentescible par addition de créosote, on ajoute de l'acide lactique. On fait ensuite subir à ce liquide

les diverses manipulations qui se succèdent ordinairement dans les expériences : répartition en tubes, chauffage à l'autoclave, séjour à l'étuve.

b) On peut aussi stériliser dans le ballon-pipette ci-dessus décrit une masse de petit-lait, l'ensemencer, la porter à l'étuve, la répartir en tubes après plusieurs heures de fermentation et doser, immédiatement après, l'acidité des différents tubes.

Dans les deux cas, le dosage d'une série de tubes fournit un écart moyen conditionné uniquement par les erreurs expérimentales qui viennent d'être énumérées. Quelle que soit la valeur de l'acidité moyenne A , l'écart est toujours, si l'opérateur est exercé, très voisin de 0 c. c. 1, en opérant sur des cultures de 10 cent. cubes et avec une solution potassique à 1,46 p. 1000. Cette valeur est minime vis-à-vis des écarts généralement obtenus dans les expériences de fermentation.

Il est vrai qu'il est peut-être dans nos expériences d'autres causes d'erreur qui échappent à la mesure. Ainsi l'ensemencement a pu n'être pas absolument invariable en quantité pour les tubes d'une même série ; car, même en employant un compte-gouttes très précis pour faire la répartition de la semence, le volume des gouttes peut n'être pas rigoureusement constant. Si l'on fait usage d'une anse de platine, la quantité très minime de semence introduite dans les tubes peut présenter quelques variations. Or les expériences faites systématiquement à ce sujet montrent facilement que la fermentation est d'autant moins intense que la quantité de semence initiale est plus faible, dans les vingt-quatre premières heures au moins, car ultérieurement les différences entre les tubes largement ensemencés et ceux qui ont reçu un moindre nombre de germes s'atténuent progressivement. En général, pourtant, la cause d'erreur qui vient d'être signalée n'a certainement qu'une influence minime et ne peut expliquer les irrégularités que nous étudions. Nous avons cru bon cependant, pour répondre à une objection possible, de pratiquer, dans un grand nombre de nos expériences, l'ensemencement en une seule fois de toute la masse du liquide fermentescible, placé et stérilisé dans le ballon-pipette ci-dessus décrit, et d'en effectuer ensuite la répartition dans les tubes après une soigneuse agitation. Il paraît difficile d'admettre que, dans ces conditions, les tubes de culture présentent des différences sensibles au point de vue du nombre de germes initiaux. Et, cependant, les irrégularités des fermentations restent les mêmes ; en sorte qu'il semble démontré qu'elles se produisent encore lorsque les cultures reçoivent toutes la même quantité de semence.

Une autre influence qui pourrait encore agir est celle de la surface libre des cultures (1). Même en choisissant des tubes aussi identiques que possible, on ne peut éliminer absolument de minimes variations du diamètre et par conséquent de la surface de section. Les bouchons d'ouate, plus ou moins serrés, peuvent aussi permettre un renouvellement plus ou moins facile de l'air au contact du liquide. Mais on peut négliger ces minimes influences. Elles interviennent à peu près également dans les diverses séries d'expériences, et aussi bien pour les tubes antiseptisés que pour les témoins. Or c'est surtout de la comparaison des premiers aux seconds que nous tirerons argument.

(1) CHARLES RICHEL. Etudes sur la fermentation lactique. Influence de la surface libre sur la marche de la fermentation. *Trav. du lab. de Ch. Richet*, t. VI, p. 490-493, 1909.

Aux écarts moyens de la moyenne, fournis par les expériences, et exprimés en centimètres cubes de la solution potassique de dosage, nous donnons le nom d'*écarts absolus*.

Il est facile de constater qu'à ces écarts d'acidité correspondent des écarts dans la multiplication des microbes. Il suffit pour cela d'effectuer quelques numérations ou même, plus simplement, de comparer les opacités des divers tubes de culture.

L'écart absolu n'est pas la seule donnée utile à considérer, comme il est facile de s'en rendre compte. En effet, imaginons deux séries de tubes ayant respectivement comme acidité moyenne 5 et 20 et fournissant des écarts absolus identiques. On ne peut évidemment hésiter à accorder à la seconde (série à 20) une plus grande régularité qu'à la première (série à 5), puisque les mêmes divergences se sont produites beaucoup plus tôt pour la série à 5.

De même qu'un observateur est impuissant à apprécier la valeur des différences individuelles d'un groupe de coureurs dont il voit seulement l'échelonnement en un point de la course sans connaître le lieu de départ, de même, pour apprécier l'irrégularité d'une série de fermentations, il ne suffit pas de considérer les écarts à un moment donné; il faut faire intervenir un autre élément, soit la durée de la fermentation, soit, comme nous l'avons fait, la quantité d'acide formée. Nous envisagerons donc aussi l'*écart relatif*, ou suivant une expression déjà employée par Jenkins et Carlson (1) dans une recherche physiologique d'un ordre tout différent de la nôtre, le « coefficient de variabilité ». Ce sera ici le rapport de l'écart absolu à l'acidité moyenne correspondante. Il permet, mieux que le premier, de comparer entre elles, au point de vue de leur irrégularité, des séries ayant fermenté dans des conditions très variables et dosées à des acidités moyennes souvent fort différentes. Et pourtant, il ne faut pas se dissimuler que la considération de cet écart relatif ne peut, à elle seule, fournir qu'une première approximation, qui devra ultérieurement être complétée par de nouvelles précisions.

(1) O. P. JENKINS et A. J. CARLSON. The rate of nervous impulse in certain molluscs. *American Jour. of Physiol.*, t. VIII, p. 251-268, 1903.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

I. — ANTISEPTIQUES RÉGULIERS ET IRRÉGULIERS.

Nous donnerons ici *in extenso* quelques-unes de nos expériences pour montrer d'une façon saisissante les contrastes qui se manifestent, au point de vue de l'irrégularité des fermentations, entre le milieu de culture normal et celui qui est additionné de certains antiseptiques. Dans les graphiques qui les résument (fig. 3), des longueurs proportionnelles aux acidités des différents tubes ont été portées sur un axe horizontal; l'extrémité de chacune d'elles définit ainsi un point pour chaque tube de culture, en sorte que l'ensemble du graphique traduit la façon selon laquelle se fait le groupement autour de la moyenne, figurée par une flèche verticale. Lorsque plusieurs tubes ont la même acidité, ils sont représentés par des points contigus placés sur une même verticale.

Dans les tableaux de chiffres, les nombres des colonnes verticales correspondent aux centimètres cubes de la solution potassique de dosage qu'il a fallu verser dans les différents tubes pour atteindre la neutralisation. Les écarts absolus sont également exprimés en centimètres cubes de potasse.

| | TÉMOINS | | NaF à 0,15 p. 1.000 | |
|-----------------------------------------------------------------------------|---------|------|---------------------|------|
| | | | | |
| EXPÉRIENCE 163. Séries dosées après 24 heures de fermentation à 38°5. | 16,2 | 19 | 16,1 | 17,1 |
| | 16,8 | 19,2 | 16,5 | 17,2 |
| | 16,8 | 19,4 | 16,6 | 17,2 |
| | 17,0 | 19,4 | 16,6 | 17,2 |
| | 17,2 | 19,8 | 16,6 | 17,2 |
| | 17,6 | 20,5 | 16,8 | 17,3 |
| | 18,0 | 21,2 | 16,8 | 17,3 |
| | 18,0 | 21,9 | 16,9 | 17,3 |
| | 18,1 | 22,2 | 16,9 | 17,4 |
| | 18,4 | 22,3 | 17,0 | 17,4 |
| MOYENNES. | 18,95 | | 16,97 | |
| Moyennes (acidité initiale déduite). . . | 14,93 | | 12,97 | |
| Écarts absolus. | 1,540 | | 0,293 | |
| Écarts relatifs. | 0,103 | | 0,023 | |

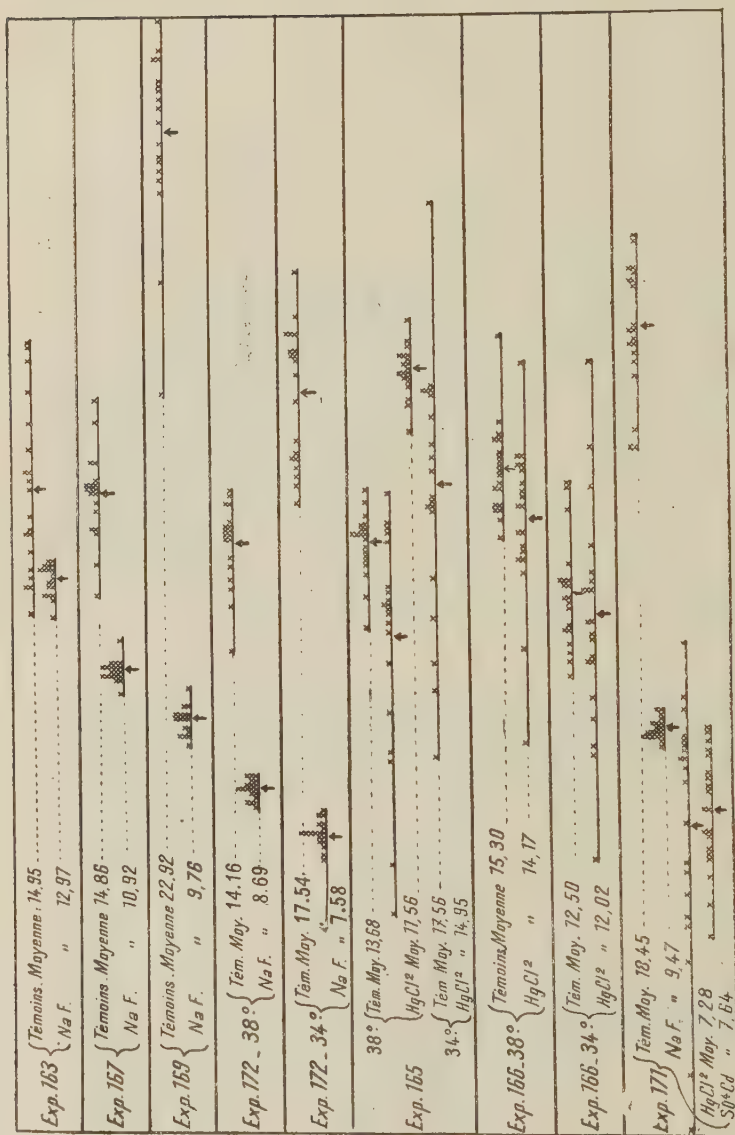


Fig. 3. — Groupement des acidités pour les cultures faites en l'absence ou en présence de certains antiseptiques. (Dans chaque groupement, l'acidité correspondant à l'un quelconque des points expérimentaux est proportionnelle à la distance séparant ce point du bord gauche de la figure).

| | TÉMOINS | | NaF à 0,12 p. 1.000 | |
|-------------------------------------------------------------------|---------|------|---------------------|------|
| | | | | |
| EXPÉRIENCE 167. Dosage après 20 heures de fermentation à 38°5. | 16,6 | 19,0 | 14,4 | 14,9 |
| | 17,3 | 19,0 | 14,7 | 15,0 |
| | 18,0 | 19,1 | 14,7 | 15,0 |
| | 18,1 | 19,1 | 14,8 | 15,0 |
| | 18,1 | 19,1 | 14,8 | 15,0 |
| | 18,5 | 19,2 | 14,8 | 15,0 |
| | 18,7 | 19,6 | 14,8 | 15,1 |
| | 18,9 | 19,6 | 14,8 | 15,1 |
| | 18,9 | 20,5 | 14,9 | 15,1 |
| | 19,0 | 21,0 | 14,9 | 15,6 |
| MOYENNES. | 18,865 | | 14,92 | |
| Moyennes (acidité initiale déduite). . | 14,865 | | 10,92 | |
| Écarts absolus. | 0,755 | | 0,162 | |
| Écarts relatifs. | 0,051 | | 0,045 | |

| | TÉMOINS | | HgCl ² à 0,0015 p. 1.000 | |
|----------------------------------------------------------------------------|---------|------|-------------------------------------|------|
| | | | | |
| EXPÉRIENCE 165. a) Séries dosées après 22 heures de fermentation à 38°. | 15,8 | 17,9 | 9,4 | 16,3 |
| | 16,5 | 17,9 | 10,5 | 16,3 |
| | 17,0 | 17,9 | 12,8 | 16,4 |
| | 17,2 | 18,0 | 13,0 | 16,6 |
| | 17,3 | 18,0 | 13,9 | 16,7 |
| | 17,4 | 18,1 | 15,0 | 17,7 |
| | 17,5 | 18,1 | 15,7 | 17,9 |
| | 17,6 | 18,3 | 15,9 | 18,0 |
| | 17,8 | 18,6 | 16,1 | 18,1 |
| | 17,9 | 18,9 | 16,2 | 18,8 |
| MOYENNES. | 17,685 | | 15,565 | |
| Moyennes (acidité initiale déduite). . | 13,685 | | 11,565 | |
| Écarts absolus. | 0,518 | | 1,879 | |
| Écarts relatifs. | 0,038 | | 0,162 | |

| | TÉMOINS | | HgCl ² à 0,0015 p. 1.000 | |
|---------------------------------------------------------|---------|------|-------------------------------------|------|
| | | | | |
| b) Séries dosées après 40 heures de fermentation à 34°. | 20,2 | 21,6 | 12,9 | 19,3 |
| | 20,8 | 21,7 | 14,4 | 19,6 |
| | 20,9 | 21,7 | 15,0 | 19,9 |
| | 21,2 | 21,8 | 16,0 | 20,5 |
| | 21,3 | 21,9 | 17,4 | 21,0 |
| | 21,4 | 21,9 | 18,4 | 21,1 |
| | 21,4 | 21,9 | 18,5 | 21,1 |
| | 21,5 | 22,1 | 18,5 | 21,1 |
| | 21,5 | 22,2 | 18,6 | 21,2 |
| | 21,5 | 22,7 | 18,7 | 25,8 |
| MOYENNES. | 21,56 | | 18,95 | |
| Moyennes (acidité initiale déduite). . | 17,56 | | 14,95 | |
| Écarts absolus. | 0,390 | | 2,110 | |
| Écarts relatifs. | 0,022 | | 0,142 | |

| | | TÉMOINS | HgCl ² à 0,0015 p. 1.000 | |
|------------------------------------------------------------|--|----------------|-------------------------------------|--|
| | | 17,8 19,3 | 13,2 18,5 | |
| | | 18,2 19,4 | 15,3 18,7 | |
| | | 18,4 19,5 | 17,0 18,8 | |
| | | 18,4 19,6 | 17,3 19,0 | |
| a) Séries dosées après 22 heures de fermentation à 38°. | | 18,5 19,7 | 17,3 19,3 | |
| | | 18,5 20,0 | 17,5 19,4 | |
| | | 18,9 20,0 | 17,6 19,4 | |
| | | 18,9 20,1 | 17,9 19,6 | |
| | | 19,0 20,4 | 17,9 19,6 | |
| | | 19,2 22,3 | 18,5 21,7 | |
| | | | | |
| MOYENNES. | | 19,305 | 18,175 | |
| Moyennes (acidité initiale déduite). . | | 15,305 | 14,175 | |
| Écarts absolus. | | 0,725 | 1,257 | |
| Écarts relatifs | | 0,047 | 0,088 | |

| | | TÉMOINS | HgCl ² à 0,0015 p. 1.000 | |
|------------------------------------------------------------|--|----------------|-------------------------------------|--|
| | | 14,7 16,4 | 10,6 15,9 | |
| | | 15,0 16,7 | 12,9 16,6 | |
| | | 15,2 16,7 | 13,1 16,6 | |
| | | 15,4 16,8 | 14,2 16,6 | |
| b) Séries dosées après 40 heures de fermentation à 34°. | | 15,7 16,8 | 15,0 16,8 | |
| | | 15,7 16,8 | 15,0 17,0 | |
| | | 15,8 17,2 | 15,1 17,6 | |
| | | 16,2 18,4 | 15,5 18,9 | |
| | | 16,3 18,9 | 16,6 19,8 | |
| | | 16,4 19,0 | 15,9 21,7 | |
| | | | | |
| MOYENNES. | | 16,505 | 16,02 | |
| Moyennes (acidité initiale déduite) . | | 12,505 | 12,02 | |
| Écarts absolus. | | 0,875 | 1,742 | |
| Écarts relatifs. | | 0,070 | 0,145 | |

Une double constatation résulte immédiatement de ces expériences. D'une part le fluorure de sodium, même à dose antiseptique faible, paraît regulariser les fermentations. D'autre part une action antiseptique, d'intensité à peu près comparable, mais exercée par le bichlorure de mercure, produit des irrégularités considérables : dans certains tubes, l'activité de la fermentation est diminuée d'environ 50 p. 100; dans d'autres, elle est égale, sinon supérieure à celle des tubes témoins. Cette grande variabilité du croît dans les différents tubes, en présence du sublimé, la régularité des fermentations en présence du fluorure de sodium apparaissent d'une façon très nette sur les graphiques.

Les mêmes phénomènes se constatent avec une netteté souvent plus grande encore lorsque l'action antiseptique a été

plus marquée. Les expériences qui suivent sont démonstratives à cet égard.

| | | TÉMOINS | NaF à 0,16 p. 1.000 | | |
|------------------------------------------------------------------|--|---------|---------------------|------|------|
| EXPÉRIENCE 169. Dosage après 39 heures de fermentation à 34°. | | 21,1 | 27,5 | 13,2 | 13,8 |
| | | 23,6 | 27,7 | 13,4 | 13,8 |
| | | 25,6 | 27,9 | 13,4 | 13,9 |
| | | 25,8 | 28,0 | 13,4 | 13,9 |
| | | 26,1 | 28,1 | 13,5 | 13,9 |
| | | 26,3 | 28,6 | 13,6 | 13,9 |
| | | 26,4 | 28,6 | 13,6 | 14,0 |
| | | 26,4 | 28,6 | 13,6 | 14,1 |
| | | 26,7 | 28,8 | 13,8 | 14,1 |
| | | 27,2 | 29,5 | 13,8 | 14,5 |
| MOYENNES. | | 26,925 | 13,76 | | |
| Moyennes (acidité initiale déduite).. | | 22,925 | 9,76 | | |
| Écarts absolus. | | 1,432 | 0,238 | | |
| Écarts relatifs | | 0,062 | 0,024 | | |

| | | TÉMOINS | | NaF à 0,16 p. 1.000 | |
|------------------------------------------------------------------------------|--|---------|--------|---------------------|------|
| EXPÉRIENCE 172. a) Séries dosées après 20 h. 30 de fermentation à 38°. | | 15,3 | 17,9 | 11,8 | 12,2 |
| | | 16,3 | 18,0 | 11,9 | 12,2 |
| | | 16,7 | 18,0 | 11,9 | 12,3 |
| | | 16,8 | 18,1 | 11,9 | 12,3 |
| | | 16,9 | 18,1 | 12,0 | 12,3 |
| | | 17,2 | 18,2 | 12,1 | 12,4 |
| | | 17,4 | 18,6 | 12,1 | 12,4 |
| | | 17,8 | 18,6 | 12,2 | 12,5 |
| | | 17,8 | 18,8 | 12,2 | 12,2 |
| | | 17,9 | 18,9 | 12,2 | 12,5 |
| MOYENNES. | | 17,665 | 12,195 | | |
| Moyennes (acidité initiale déduite). . . | | 14,165 | 8,695 | | |
| Écarts absolus. | | 0,705 | 0,166 | | |
| Écarts relatifs. | | 0,030 | 0,019 | | |

| | | TÉMOINS | | NaF à 0,16 p. 1.000 | |
|------------------------------------------------------------|--|---------|-------|---------------------|------|
| b) Séries dosées après 39 heures de fermentation à 34°. | | 18,6 | 21,8 | 9,1 | 11,2 |
| | | 19,0 | 21,9 | 10,6 | 11,2 |
| | | 19,2 | 21,9 | 10,7 | 11,2 |
| | | 19,4 | 22,0 | 10,8 | 11,2 |
| | | 19,6 | 22,0 | 11,0 | 11,3 |
| | | 19,6 | 22,4 | 11,0 | 11,4 |
| | | 19,7 | 22,4 | 11,1 | 11,4 |
| | | 20,0 | 22,4 | 11,1 | 11,6 |
| | | 20,9 | 22,8 | 11,2 | 11,6 |
| | | 21,5 | 23,8 | 11,2 | 11,7 |
| MOYENNES. | | 21,045 | 11,08 | | |
| Moyennes (acidité initiale déduite). . | | 17,545 | 7,58 | | |
| Écarts absolus. | | 1,340 | 0,328 | | |
| Écarts relatifs. | | 0,075 | 0,043 | | |

| | TÉMOINS | | NaF à 0,16 p. 1.000 | | HgCl ^a à 0,004 p. 1.000 | | SO ⁴ Cd à 0,012 p. 1.000 | |
|---------------------------------------------------------------------------------|---------|------|------------------------|------|---------------------------------------|------|----------------------------------------|------|
| EXPÉRIENCE 171. Séries dosées après 39 h. de fermenta- tion à 34°. | 19,8 | 22,4 | 13,1 | 13,4 | 4,6 | 12,6 | 8,9 | 11,7 |
| | 19,8 | 22,5 | 13,2 | 13,5 | 5,8 | 12,8 | 9,6 | 12,1 |
| | 20,2 | 23,4 | 13,3 | 13,5 | 8,3 | 12,8 | 10,2 | 12,2 |
| | 21,4 | 23,5 | 13,3 | 13,6 | 9,1 | 13,0 | 10,6 | 12,4 |
| | 21,7 | 23,5 | 13,3 | 13,6 | 9,3 | 13,1 | 10,7 | 12,5 |
| | 21,9 | 23,7 | 13,3 | 13,6 | 9,8 | 13,2 | 10,8 | 12,9 |
| | 22,1 | 23,8 | 13,3 | 13,7 | 10,3 | 13,3 | 11,1 | 13,0 |
| | 22,1 | 23,8 | 13,4 | 13,8 | 10,5 | 13,9 | 11,2 | 13,2 |
| | 22,2 | 24,4 | 13,4 | 13,9 | 11,4 | 14,2 | 11,2 | 13,4 |
| | 22,4 | 24,5 | 13,4 | 13,9 | 12,3 | 15,4 | 11,7 | 13,5 |
| MOYENNES. . . | 22,455 | | 13,475 | | 11,285 | | 11,645 | |
| Moyennes (acidité ini- tiale déduite). | 18,455 | | 9,475 | | 7,285 | | 7,645 | |
| Écarts absolus. . . | 4,100 | | 0,182 | | 2,258 | | 1,050 | |
| Écarts relatifs . . | 0,060 | | 0,019 | | 0,310 | | 0,137 | |

Nous ajouterons encore la belle expérience suivante que nous avons déjà publiée, dans une note antérieure, avec P. Le Rolland (1).

| TUBES TÉMOINS | | TUBES AU SUBLIMÉ | |
|-------------------------|-------|------------------|-------|
| c. c. | c. c. | c. c. | c. c. |
| 24,8 | 22,6 | 27,2 | 3,5 |
| 24,6 | 22,5 | 20,1 | 3,2 |
| 24,5 | 22,0 | 16,6 | 2,7 |
| 24,4 | 21,6 | 12,8 | 1,9 |
| 24,3 | 21,6 | 12,3 | 1,3 |
| 24,2 | 21,1 | 8,0 | 1,3 |
| 24,0 | 21,1 | 7,9 | 1,0 |
| 23,9 | 20,9 | 6,6 | 0,4 |
| 23,7 | 19,0 | 5,4 | 0,4 |
| 23,6 | 17,5 | 4,5 | 0,3 |
| 23,3 | 16,6 | 4,4 | 0,3 |
| | | 3,8 | 0,0 |
| | | 3,6 | 0,0 |
| Acidité moyenne. . . . | 22,35 | | 6,01 |
| Écart moyen absolu. . . | 1,80 | | 5,10 |
| Écart moyen relatif . . | 0,08 | | 0,83 |

On voit d'après cet ensemble que le sulfate de cadmium se place, au point de vue des irrégularités, entre le fluorure de sodium et le mercure.

Les écarts obtenus dans les séries précédentes et dans d'autres

(1) CHARLES RICHET, HENRY CARDOT et PAUL LE ROLLAND. Des antiseptiques réguliers et irréguliers. *C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXIX, p. 669, 30 avril 1917.

TABLEAU I.

| | TÉMOINS | | | NaF | | | SO ⁴ Cd | | | Hg Cl ² . | | |
|-----------------------------------------------|---------|--------------|---------------|---------|--------------|---------------|--------------------|--------------|---------------|----------------------|--------------|---------------|
| | Acidité | Ecart absolu | Ecart relatif | Acidité | Ecart absolu | Ecart relatif | Acidité | Ecart absolu | Ecart relatif | Acidité | Ecart absolu | Ecart relatif |
| A. FERMENTATIONS à 38-38°5. | 14,9 | 1,540 | 0,103 | 13 | 0,293 | 0,023 | 87 | 0,324 | 0,054 | 42 | 1,367 | 0,124 |
| | 13,7 | 0,518 | 0,038 | 5,5 | 0,217 | 0,039 | 40 | 0,463 | 0,099 | 34 | 1,879 | 0,162 |
| | 15,3 | 0,725 | 0,047 | 9,3 | 0,648 | 0,070 | 61 | 0,385 | 0,051 | 50 | 1,257 | 0,088 |
| | 14,9 | 0,755 | 0,051 | 10,9 | 0,462 | 0,015 | 73 | 0,630 | 0,079 | 53 | 0,886 | 0,057 |
| | 14,2 | 0,705 | 0,050 | 8,7 | 0,466 | 0,019 | 64 | 0,245 | 0,054 | 32 | 0,345 | 0,266 |
| | 14,9 | 1,052 | 0,070 | 8,2 | 0,416 | 0,124 | 55 | 0,568 | 0,082 | 46 | 0,448 | 0,498 |
| MOYENNES. | 41 | 2,240 | 0,055 | 11,6 | 0,540 | 0,046 | 28 | 3,060 | 0,138 | 54 | 2,220 | 0,322 |
| | 27,8 | 0,848 | 0,030 | 10,4 | 0,372 | 0,036 | 37 | 3,544 | 0,254 | 50 | 0,996 | 0,285 |
| | | 1,048 | 0,056 | | 0,427 | 0,046 | | 1,152 | 0,101 | | 1,162 | 0,225 |
| B. FERMENTATIONS à 33°5-34°. | 17,6 | 0,390 | 0,022 | 6,5 | 0,348 | 0,053 | 37 | 0,746 | 0,466 | 26 | 2,410 | 0,442 |
| | 12,5 | 0,875 | 0,070 | 8,4 | 0,740 | 0,088 | 67 | 0,348 | 0,093 | 27 | 1,742 | 0,445 |
| | 22,9 | 1,432 | 0,062 | 9,8 | 0,238 | 0,024 | 43 | 4,266 | 0,495 | 28 | 0,980 | 0,141 |
| | 18,4 | 1,400 | 0,060 | 9,5 | 0,482 | 0,019 | 51 | 1,450 | 0,137 | 41 | 2,258 | 0,310 |
| | 17,5 | 1,340 | 0,075 | 7,6 | 0,328 | 0,043 | 43 | 0,470 | 0,124 | 22 | 1,277 | 0,177 |
| | | 1,027 | 0,058 | | 0,367 | 0,045 | | 0,790 | 0,143 | | 1,673 | 0,177 |
| MOYENNES. | | | | | | | | | | | | |
| (100 dosages pour chacun des quatre groupes.) | | | | | | | | | | | | |

du même type faites simultanément avec NaF , $\text{SO}^{\bullet}\text{Cd}$ et HgCl^2 , sont résumés dans le tableau ci-dessus (tableau I), dans lequel sont indiquées en outre les acidités moyennes (acidité initiale déduite) au moment du dosage et, pour les trois antiseptiques, les croits en fonction du croit des témoins supposé égal à 100.

A l'inspection de ces nombres, on constate que, sinon toujours, au moins dans la majorité des cas, les tubes à fluorure de sodium ont formé des lots très homogènes; ceux à sublimé, des lots très hétérogènes. Les moyennes des deux séries, surtout en ce qui concerne l'écart relatif, sont remarquablement concordantes. En faisant égal à 100 l'écart relatif moyen des témoins dans chacun des deux cas, il vient, pour les écarts des tubes à antiseptiques :

| | | 38° | 34° |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| <i>Ecarts relatifs, si celui des témoins = 100</i> | $\left\{ \begin{array}{l} \text{Na F} \\ \text{SO}^{\bullet}\text{Cd} \\ \text{Hg Cl}^2 \end{array} \right.$ | 82 | 78 |
| | | 180 | 247 |
| | | 400 | 305 |

D'une façon nette, le bichlorure de mercure, et, à un moindre degré, le sulfate de cadmium, conditionnent des irrégularités dans les diverses cultures d'un même lot; au contraire, le fluorure de sodium exerce une action régularisante indéniable.

Nous avons examiné à ce même point de vue un assez grand nombre de substances antiseptiques, et nous avons utilisé également pour cette étude de nombreux dosages effectués pour de tout autres recherches. Il nous a été possible d'établir ainsi un classement des antiseptiques, lequel, s'il n'est pas absolument définitif, sera confirmé, pensons-nous, dans ses grandes lignes par les expériences ultérieures.

Nous donnerons d'abord ici le résumé des expériences faites avec le même ferment et le même milieu que celles qui viennent d'être rapportées. Ces expériences sont de valeurs très inégales; dans les unes, l'écart n'a été déterminé que sur un très petit nombre de tubes; dans d'autres, au contraire, le dosage a porté sur de très vastes séries. D'autre part les expériences ont été faites dans des conditions très variées, soit au point de vue des doses antiseptiques utilisées, soit au point de vue de la quantité de ferment ayant servi à l'ensemencement,

ou des températures, s'échelonnant de 33° à 42°, ou enfin du temps au bout duquel a été fait le dosage, temps généralement compris entre 24 et 48 heures. Pour toutes ces causes, les expériences en question ne constituent pas une étude systématique, irréprochable, des phénomènes, et le résultat global qu'elles fournissent n'est intéressant qu'à titre de première approximation.

Dans le tableau II qui suit, nous ne considérerons que les écarts relatifs. En outre, nous ne croyons pas utile d'y faire figurer les doses des divers antiseptiques employés. Une même dose pouvant, selon les expériences et les milieux, ou avoir une forte action antiseptique, ou rester presque sans effet, il paraît préférable de ne tenir compte ici que de l'action réellement exercée sur les microbes, action mesurée par la diminution du croît, c'est-à-dire de la quantité d'acide lactique formée. Nous égalons à 100, comme plus haut,

TABLEAU II.

| ANTISEPTIQUES UTILISÉS | ÉCARTS RELATIFS DU FERMENT LACTIQUE (celui des témoins ayant une valeur moyenne de 0,070) | | | | | Dose unité p VALEUR MOYENNE donnée par les expériences | CHUTE DE CROÎT de 0,5 P à 1,5 P (en p. 100 du croît des témoins) |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| | I CROÎT INFÉRIEUR à 50 0/0 | II CROÎT COMPRIS entre 50 et 80 0/0 | III CROÎT COMPRIS entre 80 et 100 0/0 | IV CROÎT SUPÉRIEUR à 100 0/0 | V VALEUR GLOBALE pour les croît inférieurs à 80 0/0 | | |
| Hg Cl ² | 0,437 | 0,294 | 0,134 | 0,115 | 0,383 (247 dosages) | 0,009 | 53 |
| C ⁶ H ⁵ OH. . . | 0,344 | 0,118 | 0,058 | 0,051 | 0,242 (168 dosages) | 0,78 | 86 |
| NO ³ Ag. . . . | 0,391 | 0,050 | 0,032 | » | 0,239 (218 dosages) | 0,0008 | 61 |
| Na Br. . . . | 0,296 | 0,205 | 0,070 | 0,049 | 0,242 (97 dosages) | 32 | 64 |
| Térébenthine | 0,168 | 0,071 | 0,060 | » | 0,147 (233 dosages) | 0,05 | 45 |
| SO ⁴ Cu. . . . | 0,105 | 0,217 | » | 0,049 | 0,116 (283 dosages) | 0,024 | 43 |
| SO ⁴ Cd. . . . | 0,129 | 0,062 | 0,026 | 0,017 | 0,099 (566 dosages) | 0,0145 | 55 |
| Mg Cl ² | 0,123 | 0,038 | 0,033 | 0,017 | 0,070 (82 dosages) | 9,5 | 44 |
| Na F. | 0,039 | 0,042 | 0,033 | 0,073 | 0,041 (533 dosages) | 0,126 | 34 |
| Créosote . . | 0,049 | 0,020 | 0,017 | 0,043 | 0,033 (201 dosages) | 0,653 | 57 |

l'acidité des témoins dans chaque expérience, et nous calculons l'acidité moyenne correspondante des tubes antiseptisés. Nous répartissons les différents écarts donnés par un antiseptique en quatre groupes : selon que le croît correspondant a été de 50 p. 100 inférieur à celui des témoins (actions

antiseptiques fortes), ou compris entre 50 et 80 p. 100 (actions antiseptiques moyennes), ou entre 80 p. 100 et 100 p. 100 (actions très faibles ou nulles) ou enfin supérieur à 100 p. 100 (accélération). Les séries pour lesquelles l'acidité moyenne a été inférieure à 2 cent. cubes de la solution de dosage ont été laissées hors de cause. Outre les quatre groupes ci-dessus désignés, nous avons disposé une colonne où est portée la valeur moyenne de l'écart relatif pour l'ensemble des expériences comprises dans les deux premières colonnes, c'est-à-dire pour toutes celles où l'action antiseptique a été nette, produisant une diminution du croît d'au moins 20 p. 100. Enfin, dans les deux dernières colonnes sont réunies d'autres indications relatives à l'activité antiseptique des substances étudiées. Ainsi, dans la cinquième, nous donnons pour chacune de ces substances ce que nous appelons l'unité antiseptique *P*, c'est-à-dire le poids de la substance, par litre de milieu de culture, nécessaire pour diminuer de 50 p. 100 la fermentation au bout d'un temps compris entre 24 et 48 heures. Dans la sixième et dernière colonne sont indiquées les différences entre les croîts obtenus avec les doses respectivement égales à 0,5 *P* et 1,5 *P*. Ces derniers nombres renseignent sur la pente de la courbe qui traduit la relation existant entre la dose antiseptique et l'effet exercé sur la fermentation; ils sont en quelque sorte l'expression de la plus ou moins grande brutalité de l'antiseptique étudié. La forme de la courbe en question n'est pas, d'une expérience à l'autre, toujours identique à elle-même; pour certaines substances au moins, elle se modifie, au fur et à mesure que la fermentation se poursuit; toutefois, pour des séries dosées dans un intervalle de temps compris entre 24 et 48 heures, on obtient toujours, pour chaque antiseptique, des formes analogues, caractéristiques de la substance étudiée et qui se retrouvent à peu près identiquement, comme l'a montré l'un de nous en collaboration avec Charlotte Cardot (1), sur deux espèces microbiennes très différentes.

Quelques faits se dégagent bien nettement de la lecture du tableau II.

1° En règle générale, l'introduction d'une substance antiseptique dans le milieu de culture normal paraît provoquer une marche irrégulière de la fermentation. Parmi les corps étudiés, le fluorure de sodium et la créosote seuls font exception à cette règle.

2° On est donc en droit de conclure qu'il existe d'une part un grand nombre d'antiseptiques irréguliers, pour les effets desquels on peut constater des divergences énormes en passant d'un tube de culture à un autre tube identique; et, d'autre part, quelques rares antiseptiques dont l'action est toujours bien constante et qui paraissent même régulariser la marche de la fermentation par rapport à ce que présentent les témoins.

(1) CHARLOTTE CARDOT et HENRY CARDOT. Analogie entre les ferments lactiques et les streptocoques au point de vue de l'action des antiseptiques. *C. R. Ac. des Sc.* t. CLXV, p. 272, 13 août 1917.

3° D'une façon tout à fait nette, pour les antiseptiques irréguliers, on constate que ce sont les doses les plus fortement actives qui conditionnent les plus grands écarts. Pour chacun d'eux, en effet, l'écart relatif décroît presque sans exception de la première à la quatrième colonne, et lorsque la diminution de croît est inférieure à 20 p. 100, ou moins, encore, la valeur de l'écart est comparable à celle de l'écart des témoins. Le bichlorure de mercure seul, infiniment irrégulier, semble encore exercer une action à ce point de vue, aux doses inactives ou même accélérantes.

4° Aucune relation nette ne semble apparaître entre l'irrégularité d'un antiseptique d'une part, et de l'autre, sa toxicité, la forme de sa courbe d'action en fonction de la quantité de substance, ou encore sa composition chimique; tout au plus peut-on indiquer que les sels des métaux lourds rentrent dans la catégorie des antiseptiques irréguliers.

Pour classer les unes par rapport aux autres les diverses substances étudiées, nous tiendrons compte seulement de celles de nos expériences où l'action de l'antiseptique a été énergique, déterminant une diminution du croît d'au moins 20 p. 100. Ce sont alors les seuls chiffres de la cinquième colonne qu'il faut considérer. En faisant égal à 100 l'écart moyen relatif (0,070) des témoins, les écarts relatifs correspondant aux principaux antiseptiques figurant dans le tableau précédent prennent les valeurs suivantes :

| ANTISEPTIQUES | ÉCARTS RELATIFS (si celui des témoins = 100) |
|--------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| HgCl ² | 547 |
| C ⁶ H ⁵ OH | 346 |
| NO ³ Ag | 341 |
| SO ⁴ Cu | 166 |
| SO ⁴ Cd | 141 |
| NaF | 59 |
| Créosote | 47 |

D'autre part, en utilisant les très nombreuses données recueillies par l'un de nous (1) en vue d'autres recherches, toujours sur le ferment lactique, végétant, cette fois, dans du lait, nous

(1) CHARLES RICHET. Adaptation des microbes (ferment lactique) au milieu. Ces *Annales*, t. XXIX, p. 22-35, janvier 1915.

obtenons, en supposant encore l'écart relatif des témoins égal à 100, les nouveaux chiffres qui suivent :

| ANTISEPTIQUES | ÉCARTS RELATIFS (si celui des témoins = 100) |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------|
| SO^4Zn | 515 |
| Hg Cl^2 | 500 |
| AsO^4K^3 | 480 |
| SO^4Cd | 420 |
| Ba Cl^2 | 312 |
| SO^4Cu | 240 |
| NO^3Ti | 196 |
| $(\text{NO}^3)^2\text{Pb}$ | 170 |
| Vd OCl | 150 |
| K Cl | 110 |

En combinant ces deux listes, on arrive au classement suivant, qui n'est, il faut bien le reconnaître, qu'une première approximation, encore imparfaite :

| | |
|-------------------------------------------|------------------------------------------|
| Hg Cl^2 | } <i>Antiseptiques très irréguliers.</i> |
| $\text{C}^6\text{H}^5\text{OH}$ | |
| NO^3Ag | |
| AsO^4K^3 | } <i>Antiseptiques irréguliers.</i> |
| SO^4Cu | |
| SO^4Cd | |
| NaF | } <i>Antiseptiques réguliers.</i> |
| Créosote | |

Dès maintenant se pose une question, non dénuée d'importance. Dans quelle mesure un tel classement, établi sur le seul ferment lactique, sera-t-il vérifié si l'on s'adresse à une espèce microbienne toute différente ? Charlotte Cardot et l'un de nous ont cherché à étendre à un microbe pathogène quelques-unes des conclusions qui se dégagent de l'étude du bacille lactique. Le streptocoque cultivé en bouillon lactosé à 1 p. 100 produit une quantité d'acide suffisante pour qu'il soit possible de lui appliquer la même méthode que celle employée pour le microbe précédent. Il va sans dire que les expériences, d'une préparation plus délicate, ne peuvent porter, comme les précédentes, sur de très vastes séries de cultures. Les quelques données recueillies sur trois antiseptiques (fluorure de sodium, phénol, nitrate d'argent) forment néanmoins un ensemble satisfaisant, présentant avec les résultats qui viennent d'être exposés une concordance remarquable (Voy. tableau III).

On retrouve dans ce tableau les faits essentiels qui s'indiquaient dans celui du ferment lactique : grande régularité du fluorure; fortes irrégularités pour le phénol et le nitrate d'argent, surtout aux doses les plus actives. Les expériences qui sont résumées ici ont été faites sur plusieurs races de streptocoques. En ne considérant que la valeur globale de l'écart pour les croîts inférieurs à 80 p. 100 de celui des témoins et

TABLEAU III.

| ANTISEPTIQUES UTILISÉS | ÉCARTS RELATIFS DU STREPTOCOQUE | | | | |
|-------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| | CROIT INFÉRIEUR à 50 0/0 | CROIT COMPRIS entre 50 et 80 0/0 | CROIT COMPRIS entre 80 et 100 0/0 | CROIT SUPÉRIEUR à 100 0/0 | VALEUR GLOBALE pour les croîts inférieurs à 80 0/0 |
| NO^3Ag | 0,759 (17 dosages) | 0,536 (27 dosages) | 0,173 (12 dosages) | 0,056 (36 dosages) | 0,628 (44 dosages) |
| $\text{C}^6\text{H}^5\text{OH}$ | 0,295 (36 dosages) | 0,180 (10 dosages) | 0,073 (45 dosages) | 0,043 (77 dosages) | 0,270 (46 dosages) |
| NaF | 0,039 (27 dosages) | 0,018 (44 dosages) | 0,020 (54 dosages) | " | 0,025 (71 dosages) |

en faisant dans chaque groupe d'expériences l'écart relatif des témoins égal à 100 (la valeur de cet écart a été 0,092 dans la série des expériences sur le nitrate d'argent, 0,038 dans celles du phénol et 0,041 dans celles du fluorure), on arrive finalement à des résultats très comparables à ceux qui ont été obtenus avec le ferment lactique :

| | ÉCARTS RELATIFS EN 0/0 DE CELUI DES TÉMOINS | |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------|
| | Streptocoque | Ferment lactique |
| $\text{C}^6\text{H}^5\text{OH}$ | 712 | 346 |
| NO^3Ag | 681 | 341 |
| NaF | 61 | 59 |

Ces résultats permettent de penser que des antiseptiques classés réguliers ou irréguliers par rapport au ferment lactique se retrouveront tels lorsqu'on s'adressera à une espèce microbienne tout autre, et que les conclusions auxquelles nous arri-

vons dans le présent mémoire pourront peut-être fournir quelques indications utiles à la thérapeutique et à la chirurgie (1).

II. — IRRÉGULARITÉS DES CULTURES NORMALES. DE QUELQUES INFLUENCES QUI LES CONDITIONNENT.

Nous avons dit que la considération de l'écart relatif, si utile qu'elle soit, ne peut donner qu'une approximation un peu grossière des faits. On ne trouve d'ailleurs pas la pierre de touche parfaite pour classer d'une façon excellente les antiseptiques au point de vue des irrégularités qu'ils déterminent dans l'activité des fermentations. Aussi est-il intéressant, et même à peu près indispensable, d'envisager la question sous différents aspects. Pour la reprendre par un détour, nous allons momentanément abandonner l'étude des antiseptiques pour nous limiter à celle des cultures normales (témoins) en cherchant quelles sont, dans ce cas, les diverses influences qui peuvent s'exercer pour conditionner des écarts entre les tubes d'une même série.

A. — Malgré un triage soigné en vue d'obtenir des tubes d'un calibre parfaitement constant, il est impossible de réaliser à ce point de vue une identité parfaite. De ce fait, qui implique de minimes différences dans l'étendue des surfaces libres des cultures, résultent de petites variations dans les croûts. En règle générale, dans nos expériences, la fermentation est plus active dans les tubes étroits que dans les larges, mais cette influence est si faible qu'elle ne peut être mise en évidence que par des moyennes correspondant à des lots de tubes groupés par calibre. Elle n'apparaît pas d'une façon constante sur l'ensemble des tubes d'une même fermentation, irrégularisée par un antiseptique tel que le sublimé; au contraire, elle semble plus nette que pour les témoins, dans les séries bien régulières du fluorure de sodium. Cette remarque a son intérêt, car il paraît dès lors évident que, si l'influence en question entraîne bien de minimes causes de variations, décelables dans les séries

(1) Nous avons proposé aux chirurgiens de poursuivre méthodiquement l'étude du fluorure de sodium comme antiseptique à cause de son absolue régularité. Les résultats n'ont pas été favorables. Il ne paraît pas cependant qu'on doive à l'avenir négliger, dans la pratique chirurgicale, cette notion nouvelle si importante de la régularité et de l'irrégularité des antiseptiques.

régulières, les grandes irrégularités dues aux antiseptiques ne sont pas une simple exagération des minimas variations dues à la surface libre.

B. — En déterminant sur les cultures en milieu normal la valeur des écarts pour des acidités croissantes, c'est-à-dire pour des séjours à l'étuve de plus en plus longs, on arrive à des résultats assez constants d'une expérience à l'autre.

Voici les valeurs moyennes des écarts absolu et relatif, aux

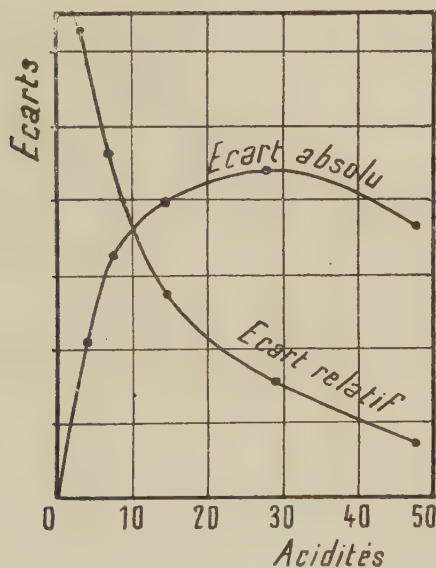


FIG. 4. — Variations des écarts en fonction de l'acidité.

différentes acidités. Ces moyennes résultent de nombreuses expériences comprenant plus d'un millier de dosages :

| ACIDITÉ | ÉCARTS | | NOMBRE DE DOSAGES |
|--------------------------------------|--------|---------|----------------------|
| | ABSOLU | RELATIF | |
| De 0 à 5 c.c. (valeur moyenne 3,8) . | 0,439 | 0,125 | 132 |
| De 5 à 10 c.c. (— 7,4) . | 0,655 | 0,092 | 464 |
| De 10 à 20 c.c. (— 14,35) . | 0,787 | 0,055 | 615 |
| De 20 à 40 c.c. (— 27,5) . | 0,880 | 0,032 | 209 |
| De 40 à 50 c.c. (— 47,5) . | 0,734 | 0,015 | 42 |

Les variations des écarts en fonction de l'acidité, sur lesquelles nous reviendrons plus loin, sont résumées par les deux courbes de la figure 4.

Si l'on prolonge l'observation assez longtemps, on constate d'ailleurs qu'au bout de 4 à 5 jours, c'est-à-dire en fin de fermentation, les écarts absolus diminuent et finissent par devenir très minimes et de l'ordre des erreurs expérimentales, lorsque l'acidité limite est atteinte. Les écarts observés en cours de fermentation doivent donc s'interpréter comme traduisant une inégale rapidité de croissance des différentes cultures.

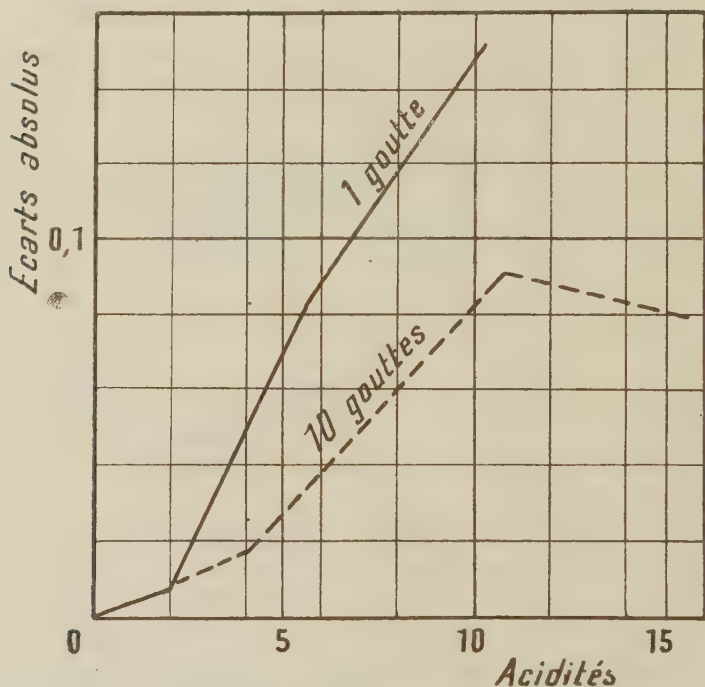


FIG. 5. — Variations de l'écart moyen en fonction de l'acidité et de la quantité de semence.

C. — Les variations de l'écart en fonction de l'acidité n'apparaissent pas seulement dans les moyennes de nombreuses expériences; elles se retrouvent sans difficulté dans les diverses expériences prises isolément (voir fig. 5, 6 et 9). Ce qui de l'une à l'autre de celles-ci peut varier dans des limites assez étendues, ce sont les valeurs absolues de ces écarts. Dans telle série, la courbe des écarts en fonction de l'acidité est toujours située au-dessus de la courbe correspondant à telle autre série, sauf tout-à-fait à la fin de la fermentation, les deux courbes tendant

alors à se rejoindre. Il n'est pas toujours possible de déterminer la raison d'une telle différence.

La température ne semble pas, dans les limites où nous nous sommes placés (de 34° à 41°) avoir une influence quelconque. Il suffit pour s'en convaincre de se reporter au tableau I, où les valeurs moyennes des écarts, aussi bien pour les cultures

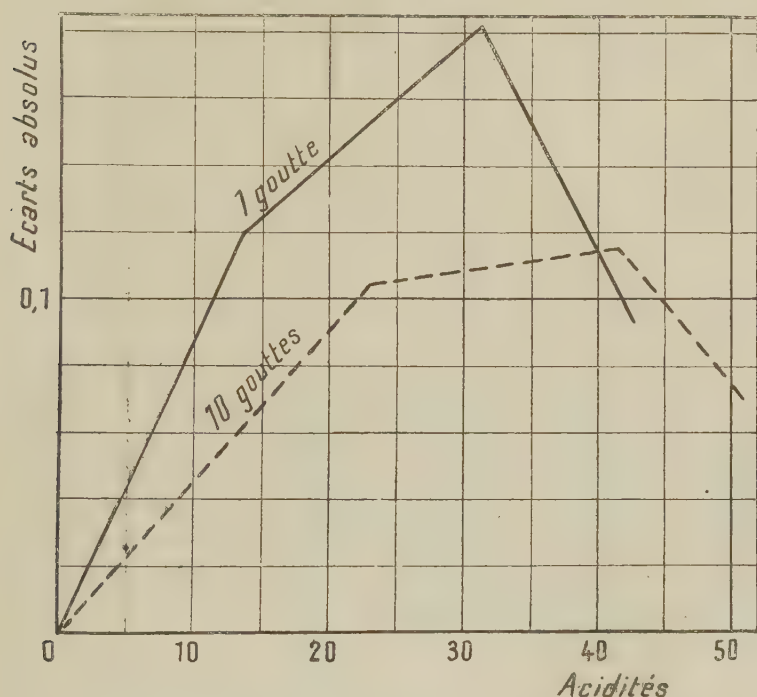


FIG. 6. — Variations de l'écart moyen en fonction de l'acidité et de la quantité de semence.

normales que pour les antiseptisées, sont sensiblement du même ordre de grandeur, à 38° et à 34°.

En revanche, un facteur important est la quantité de semence initialement introduite dans les tubes. On peut poser en principe que plus l'ensemencement d'une série, normale ou antiseptisée, a été abondant, c'est-à-dire plus le départ de la fermentation a été rapide, plus les écarts sont faibles.

Les deux expériences suivantes, dans lesquelles on compare les écarts absolus d'une série de tubes ensemencés avec une

goutte de culture à ceux d'un autre lot, où l'ensemencement a été fait par dix gouttes, sont démonstratives à cet égard (fig. 5 et 6).

EXPÉRIENCE 166 bis (fig. 5).

| DURÉE DE LA FERMENTATION à 37° | ACIDITÉ | | ÉCART ABSOLU | |
|-----------------------------------|----------|------------|--------------|------------|
| | 1 goutte | 10 gouttes | 1 goutte | 10 gouttes |
| 14 h. 30 | 2,25 | 4,25 | 0,070 | 0,180 |
| 19 h. 30 | 5,61 | 10,78 | 0,832 | 0,912 |
| 23 h. 30 | 10,34 | 15,76 | 1,508 | 0,788 |

EXPÉRIENCE 168 (fig. 6).

| DURÉE DE LA FERMENTATION à 38°5 | ACIDITÉ | | ÉCART ABSOLU | |
|------------------------------------|----------|------------|--------------|------------|
| | 1 goutte | 10 gouttes | 1 goutte | 10 gouttes |
| 21 h. 30 | 13,80 | 23,25 | 1,200 | 1,040 |
| 45 h. | 31,41 | 41,66 | 1,912 | 1,152 |
| 71 h. | 42,73 | 50,94 | 0,930 | 0,800 |

Si l'on compare les écarts des deux lots à acidité égale, comparaison qui se fait immédiatement à l'inspection des graphiques correspondants à ces expériences, le fait qui vient d'être signalé apparaît en toute évidence. Il mérite d'être retenu, bien que, dans nos expériences sur les antiseptiques, il ne puisse intervenir, dans chaque série, tubes antiseptisés et témoins recevant des quantités de semence identiques, ou tout au moins identiquement variables.

III. — COMPARAISON DES ÉCARTS DE LA MOYENNE A ACIDITÉS ÉGALES.

Des considérations qui viennent d'être exposées, la seule qui mérite de nous arrêter se rapporte à la variation de l'écart moyen absolu, et aussi de l'écart relatif en fonction de l'acidité. Puisque l'on ne retient des expériences relatées, dans la première partie de ce mémoire, que celles où l'action de l'antiseptique a été effective, déterminant une notable diminution du croît, il en résulte que les tubes antiseptisés sont dosés, en moyenne, à des acidités plus faibles que celles des témoins. Il n'est donc pas absolument légitime de se borner à comparer les valeurs globales des écarts relatifs dans l'un et l'autre cas, et il semble indiqué d'examiner parallèlement les écarts absolus

des uns et des autres à égalité d'acidité (ici, la notion d'écart relatif n'a plus à intervenir); comme on va le voir, cette seconde méthode, dont les résultats sont résumés dans le tableau IV et un graphique, confirme complètement les conclusions auxquelles nous sommes déjà arrivés. Nous avons repris ici toutes les expériences où le croît a été diminué d'au moins 20 p. 100

TABLEAU IV (fig. 7).

| ANTISEPTIQUES UTILISÉS | FERMENT LACTIQUE | | | |
|--------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | Écarts absolus pour une acidité de (1) | | | |
| | 0 à 5 c. c. | 5 à 10 c. c. | 10 à 20 c. c. | 20 à 40 c. c. |
| NO ³ Ag. | (2,7) 2,440 11 dosages. | (7,1) 3,997 124 dosages. | (18,7) 0 921 107 dosages. | " |
| Hg Cl ² | (3,8) 1,624 162 dosages. | (6,56) 2,474 170 dosages. | (14,5) 1,476 30 dosages. | " |
| C ⁶ H ⁵ OH | (3,6) 1,245 28 dosages. | (6,8) 1,535 81 dosages. | (16,9) 2,340 20 dosages. | (28,7) 1,130 33 dosages. |
| Na Br. | (2,7) 0,575 92 dosages. | " | " | " |
| SO ⁴ Cu. | (3,0) 0,199 109 dosages. | (6,6) 0,585 119 dosages. | (17,2) 3,748 29 dosages. | " |
| SO ⁴ Cd. | (3,8) 0,254 273 dosages. | (6,4) 0,728 191 dosages. | (12,6) 2,405 39 dosages. | (24,8) 1,770 63 dosages. |
| Térébenthine | (3,3) 0,507 60 dosages. | (6,4) 0,928 40 dosages. | (13,6) 1,576 62 dosages. | (25,0) 2,201 61 dosages. |
| Témoins. | (3,8) 0,439 132 dosages. | (7,1) 0,655 461 dosages. | (14,3) 0,787 615 dosages. | (27,5) 0,880 200 dosages. |
| Mg Cl ² | (2,4) 0,317 74 dosages. | (7,7) 0,365 64 dosages. | (18,2) 0,510 8 dosages. | " |
| Na F. | (4,0) 0,104 81 dosages. | (7,7) 0,368 285 dosages. | (15,6) 0,820 119 dosages. | " |
| Créosote. | (2,9) 0,156 23 dosages. | (7,3) 0,378 35 dosages. | (14,8) 0,393 107 dosages. | (23,9) 0,881 109 dosages. |

(1) Les nombres entre parenthèses indiquent, pour chaque groupe, la moyenne des acidités trouvées dans les différentes expériences.

par rapport aux témoins, et en les classant, pour chaque antiseptique, selon la valeur de l'acidité atteinte au moment du dosage, nous avons pris la moyenne des écarts absolus pour toutes les acidités comprises entre 0 et 5 cent. cubes, 5 et 10 cent. cubes, 10 et 20 cent. cubes, et enfin au-dessus de 20 cent. cubes. Le graphique donne, pour les témoins et pour cinq antiseptiques, la courbe de variations de l'écart absolu en fonction de l'acidité (fig. 7).

Dans la phase d'activité fermentative, les diverses cultures d'un même lot présentent, même en l'absence de toute substance antiseptique, une variable vitesse de développement. Les inégalités que l'on constate ainsi entre les divers tubes d'une même série faite sur du petit-lait normal, quoique géné-

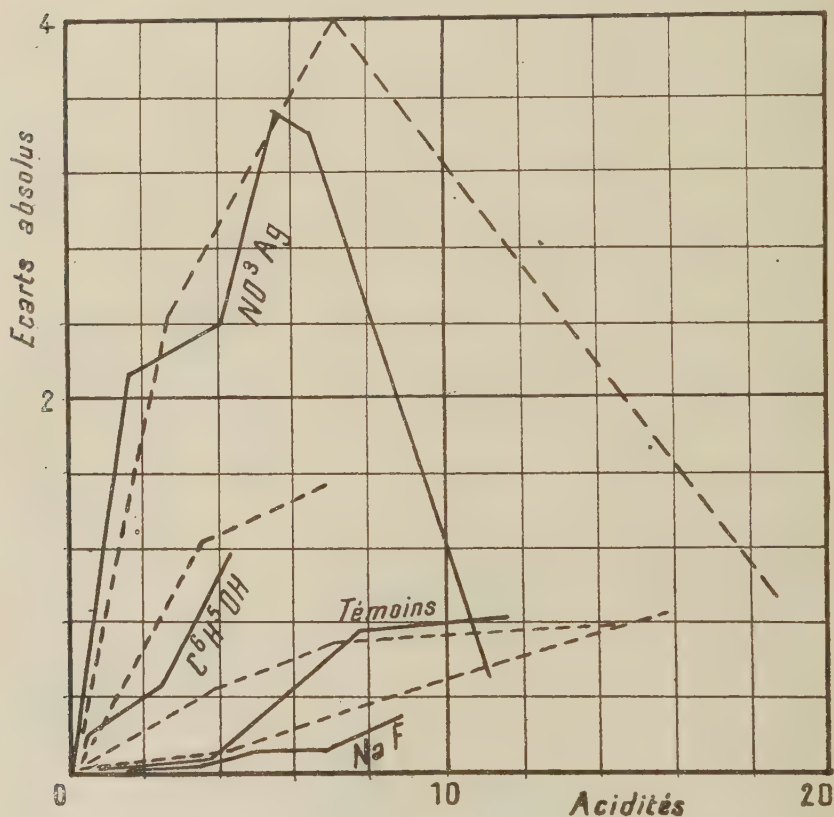


FIG. 8. — Variations de l'écart moyen en fonction de l'acidité (comparaison du streptocoque et du ferment lactique). (—) Streptocoque; (.....) Ferment lactique.

ralement minimales, ne peuvent être ni attribuées entièrement à des erreurs expérimentales, ni rapportées à des causes immédiatement discernables. On peut cependant faire, à leur sujet, une remarque assez importante, qui sera mise en valeur un peu plus loin. Les écarts constatés varient d'une façon nette avec la qualité des milieux de culture employés. Certains lots

de petit-lait donnent des écarts relativement considérables; avec d'autres la régularité est plus grande. On constate, très généralement, que les milieux qui permettent un rapide développement du microbe fournissent de bien moindres irrégularités que ceux sur lesquels le micro-organisme végète mal et lentement.

Un liquide que nous employons d'une façon courante, en même temps que le sérum de lait, est une infusion de radiceles d'orge, additionnée de lactose brut. Les fermentations s'y développent avec une rapidité extrême, mieux qu'avec n'importe quel petit-lait, et alors les écarts y sont en moyenne quatre ou cinq fois plus faibles qu'avec ce dernier milieu; c'est-à-dire qu'ils sont presque de l'ordre des erreurs expérimentales.

On pourrait donc, dans une certaine mesure, apprécier la qualité d'un milieu vis-à-vis d'une espèce microbienne donnée par la grandeur des écarts constatés dans les expériences faites en ce milieu.

Nous disons *dans une certaine mesure*, car il est évident qu'un milieu additionné de fluorure de sodium, qui tend cependant à régulariser la fermentation, n'est pas un milieu favorable pour le ferment lactique.

Ce qu'il faut retenir, c'est qu'il est possible, en faisant un choix convenable parmi les milieux normaux ou *supposés tels*, de faire disparaître presque complètement les irrégularités en question, et qu'on peut les exagérer énormément par l'addition de certaines substances toxiques, notamment de celles que nous avons appelées antiseptiques irréguliers. Voilà donc un phénomène dont nous pouvons, à volonté, dans un sens ou dans l'autre, faire varier l'amplitude. Il semble donc possible d'en pouvoir préciser le mécanisme.

La substance toxique dont l'addition exagère les irrégularités de la fermentation peut porter son action sur certaines substances indispensables à la nutrition du microbe et qui se trouvent dans le liquide à l'état de traces, et alors soit se combiner à une partie de ces substances, soit déterminer leur précipitation partielle, soit agir par tout autre mécanisme pour en rendre l'utilisation impossible. Mais il n'est guère possible de comprendre pour quelle raison ces réactions physico-chi-

miques, si elles s'accomplissent, auraient une intensité variable d'un tube de culture à l'autre.

C'est ailleurs, nous semble-t-il, qu'il convient de rechercher une explication valable des grands écarts observés en présence de certains antiseptiques. Si l'on rapproche ces deux constatations, à notre sens fondamentales, d'une part que les écarts sont d'autant plus grands que la quantité de semence introduite dans les cultures est plus faible, d'autre part que les grandes irrégularités en présence d'antiseptiques apparaissent surtout pour les doses toxiques fortes, pour celles où le développement est encore tout juste possible, on est amené à se rallier à une hypothèse qui a déjà été formulée par l'un de nous et qui coordonne les faits observés d'une façon assez satisfaisante.

Voici une série de tubes de culture additionnés d'une forte dose de toxique, de sublimé par exemple, et recevant, comme dans le cas de nos expériences, une même quantité de semence. Au bout de 12 ou de 24 heures, ces cultures se sont inégalement développées. Notre hypothèse consiste à admettre, sous réserve d'une démonstration ultérieure, que les différents tubes, quoique ayant reçu le même nombre de bactéries, ont été inégalementensemencés, par le fait qu'un très faible pourcentage des microbes de la semence était seul capable de croître en présence de mercure. Admettons que chaque tube a reçu 20.000 bactéries et qu'il n'y a en moyenne dans la semence initiale qu'un individu microbien sur 10.000 capables de s'acoutumer au mercure. Il en résulte que certains tubes pourront renfermer, par le jeu du hasard, 1, 2, ... 10 germes capables de développement, tandis que d'autres en seront complètement dépourvus; de même que, si l'on a mélangé des billes noires et des billes blanches dans la proportion de 10.000 à 1, et qu'on constitue au hasard des lots de 20.000 billes, certains d'entre eux seront dépourvus de billes blanches, alors que d'autres en renfermeront une ou plusieurs.

Dans une expérience comme celle qui a été relatée plus haut avec le mercure (expérience en commun avec Paul Le Rolland) et dans laquelle certains tubes sont restés stériles, on aurait, si l'on avait déterminé, au moins comme ordre de grandeur, le nombre de bactéries introduites dans les tubes, la mesure

du pourcentage des individus accoutumables au mercure, et ce, par une méthode comparable à celle qui est couramment utilisée sous le nom de méthode des dilutions.

L'hypothèse précédente a un double intérêt. Elle nous montre d'abord que les individus microbiens d'une même culture pure ne sont pas tous identiques à eux-mêmes; qu'il en est parmi eux, certains, qui, seuls, sont capables de se développer dans un milieu toxique; et ils sont d'autant plus rares que la toxicité du milieu est plus grande. Elle donne ensuite au phénomène des écarts toute sa signification en le reliant aux possibilités d'accoutumance. Elle n'est pas contredite par le fait que certains antiseptiques n'introduisent pas d'irrégularités, car il n'est pas fatal que les individus microbiens soient inégalement susceptibles vis-à-vis de tous les toxiques. Elle ne l'est pas non plus par le fait qu'en l'absence de toute addition de poison, les écarts peuvent être plus ou moins amples, selon le milieu de culture choisi. Certains des milieux supposés normaux peuvent en réalité, à un plus ou moins fort degré, n'être pas favorables à la croissance de la majorité des bactéries, et des écarts peuvent apparaître dans ces conditions. Le milieu normal, pour un microbe donné, n'est-il pas celui sur lequel ce microbe a été cultivé pendant un très grand nombre de générations? Tout changement de milieu introduit une anomalie et permet à l'accoutumance de jouer, inégalement, dans les diverses lignées. De fait, lorsqu'on transplante une culture d'un milieu sur un autre, même plus favorable en définitive, on constate pendant les premiers jours des irrégularités marquées. Et l'on pourrait presque tenir cette constatation pour une démonstration de l'hypothèse proposée, s'il n'était possible de l'appuyer encore sur une expérience plus probante.

Un ferment lactique pur a été cultivé d'une part sur une infusion de racines d'orge (50 grammes de racines par litre), additionnée de lactose brut à raison de 30 grammes par litre, et d'autre part sur le même milieu renfermant 2,66 p. 1000 d'arséniate de potassium, c'est-à-dire une dose toxique forte, diminuant de plus de 80 p. 100 au bout de 24 heures l'activité d'un ferment non habitué. Mais une accoutumance nette au poison n'a pas tardé à se manifester pour le ferment sans cesse réensemencé sur le liquide arsenical. En effet, alors que le

ferment lactique quotidiennement réensemencé sur le milieu normal donne une acidité que nous supposerons égale à 100 (acidité, [peu variable] en valeur absolue au cours de l'expérience), le ferment provenant de la même souche que le précé-

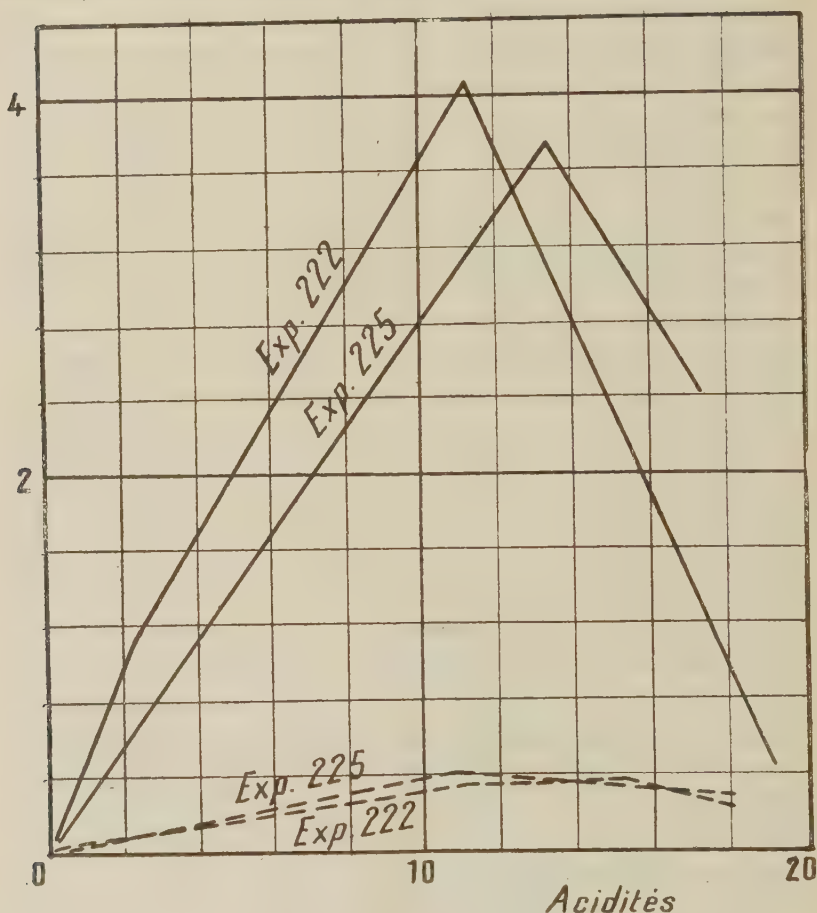


FIG. 9. — Variations des écarts absolus en fonction de l'acidité pour un ferment normal (—) et pour un ferment accoutumé à l'arsenic (---), cultivés tous deux en milieu arsenical.

dent, mais constamment réensemencé sur le milieu arsenical, développe dans le même temps, d'une façon régulière, au bout de cinq à six semaines d'accoutumance, une acidité de 75 à 85. C'est-à-dire qu'après accoutumance le poison ne diminue plus le croît que de 15 à 25 p. 100. On réalise donc ainsi, à partir

d'une même souche initiale, deux races microbiennes, une race-témoin qui jamais n'a subi l'action de l'arsenic et une race arsenicale. La comparaison des manières d'être de ces deux races, au point de vue des écarts, lorsqu'elles sont toutes deux ensemencées sur milieu arsenical, constitue une épreuve intéressante pour juger de la valeur de l'hypothèse précédemment exposée. Si celle-ci est exacte, si, en d'autres termes, les écarts sont bien liés à d'inégales possibilités d'accoutumance des individus microbiens et au faible pourcentage des germes aptes à végéter d'emblée sur le milieu toxique, la lignée qui n'a jamais subi l'action de l'arsenic devra constamment, dans la série des cultures faites pour la première fois sur le milieu arsenical, présenter de grands écarts, tandis que le ferment accoutumé depuis plusieurs semaines fournira des séries beaucoup plus homogènes. C'est effectivement ce que l'on constate d'une façon constante, comme en témoignent les deux expériences suivantes :

EXPÉRIENCE 222 (fig. 9).

Ferment arsenical et ferment normal ensemencés sur infusion de radiceles d'orge, lactosée et additionnée de 2 gr. 66 d'arséniate neutre de potasse par litre. Fermentation à 41°. Les dosages sont effectués sur des groupes de 8 tubes pour chaque lot, à divers moments de la fermentation.

| | | DURÉE DE LA FERMENTATION | | | | | | | |
|------------------------------------------------|--|--------------------------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|
| | | 16 heures | | 23 heures | | 44 heures | | 70 heures | |
| | | ACIDITÉ | ÉCARTS | ACIDITÉ | ÉCARTS | ACIDITÉ | ÉCARTS | ACIDITÉ | ÉCARTS |
| <i>Ferment arsenical sur milieu arsenical.</i> | | 10,4 | 0,6 | 14,7 | 0,5 | 17,1 | 0,6 | " | " |
| | | 10,6 | 0,4 | 14,8 | 0,4 | 17,4 | 0,2 | " | " |
| | | 10,7 | 0,3 | 14,9 | 0,3 | 17,6 | 0,1 | " | " |
| | | 10,9 | 0,1 | 15 | 0,2 | 17,7 | 0 | " | " |
| | | 11 | 0 | 15 | 0,2 | 17,7 | 0 | " | " |
| | | 11,2 | 0,2 | 15,3 | 0,1 | 17,8 | 0,1 | " | " |
| | | 11,5 | 0,5 | 15,9 | 0,7 | 18,2 | 0,5 | " | " |
| | | 11,7 | 0,7 | 15,9 | 0,7 | 18,2 | 0,5 | " | " |
| MOYENNES. . . | | 11,0 | 0,35 | 15,2 | 0,38 | 17,7 | 0,25 | | |
| <i>Ferment normal sur milieu arsenical.</i> | | " | " | 0,3 | 2,2 | 3,3 | 7,9 | 18,2 | 0,9 |
| | | " | " | 1,3 | 1,2 | 4,0 | 7,2 | 18,5 | 0,6 |
| | | " | " | 1,4 | 1,1 | 10,2 | 1 | 18,7 | 0,4 |
| | | " | " | 1,9 | 0,6 | 13,8 | 2,6 | 19,1 | 0 |
| | | " | " | 2 | 0,5 | 14,1 | 2,9 | 19,3 | 0,2 |
| | | " | " | 3,3 | 0,8 | 14,2 | 3 | 19,4 | 0,3 |
| | | " | " | 4,5 | 2 | 14,8 | 3,6 | 19,7 | 0,6 |
| | | " | " | 5,1 | 2,6 | 15,5 | 4,3 | 19,8 | 0,7 |
| MOYENNES. | | | | 2,5 | 1,37 | 11,2 | 4,06 | 19,1 | 0,46 |

EXPÉRIENCE 225 (fig. 9).

Mêmes conditions que la précédente, sauf que trois séries de cultures ont été pratiquées parallèlement : ferment arsenical sur milieu arsenical, ferment normal sur milieu arsenical et sur milieu normal. Nous donnerons ici seulement les moyennes des nombres obtenus.

| | 21 HEURES | | 46 HEURES | | 69 HEURES | |
|-----------------------------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
| | DE FERMENTATION | | DE FERMENTATION | | DE FERMENTATION | |
| | ACIDITÉ moyenne | ÉCART MOY. de la moyenne | ACIDITÉ moyenne | ÉCART MOY. de la moyenne | ACIDITÉ moyenne | ÉCART MOY. de la moyenne |
| <i>Ferment arsenical sur milieu arsenical . . .</i> | 10,8 | 0,41 | 18,0 | 0,30 | » | » |
| <i>Ferment normal sur milieu normal.</i> | 14,75 | 0,55 | » | » | » | » |
| <i>Ferment normal sur milieu arsenical.</i> | » | » | 13,3 | 3,74 | 17,3 | 2,43 |

Les graphiques (fig. 9) montrent bien qu'en fonction de l'acidité la courbe des écarts du ferment normal sur arsenic s'élève très au-dessus de celle du ferment accoutumé à l'arsenic, sur milieu arsenical. Le résultat de cette expérience est tout à fait constant et peut être aisément répété, pourvu qu'on fasse précéder l'expérience d'une culture assez prolongée du microbe dans le milieu toxique.

Un ferment lactique, pur, cultivé pour la première fois en présence d'une forte dose d'arsenic, végète donc d'une façon extrêmement irrégulière, tandis que le même ferment, préalablement habitué à cette même dose de poison depuis plusieurs semaines, végète d'une façon très régulière, comparable à ce point de vue à un ferment normal, cultivé en milieu normal.

Les irrégularités des fermentations en présence de diverses substances toxiques peuvent encore apparaître dans d'autres conditions, qu'il est peut-être intéressant de signaler. Une culture lactique en milieu normal, quotidiennement réensemencée, développe généralement en 24 heures une quantité d'acide qui se retrouve toujours sensiblement la même, lorsque les conditions expérimentales restent identiques. Et ceci est vrai encore, avec des milieux de culture additionnées de certains antiseptiques que nous avons appelés *antiseptiques réguliers* et dont le fluorure de sodium est le type le plus remarquable. Pour une telle substance, la même dose de poison

entraîne une diminution de croît qui se retrouve, dans les différentes expériences, à peu près identique à elle-même. Avec les antiseptiques irréguliers, au contraire, il est plus difficile, et même presque impossible, de prévoir quelle sera l'influence d'une dose donnée. L'addition d'une quantité donnée de bichlorure de mercure peut entraîner une diminution moyenne du croît de 60 p. 100 dans une expérience et de 20 p. 100 seulement dans une autre. Pendant plusieurs semaines, nous avons quotidiennement ensemencé sur un milieu à 2,66 p. 1000 d'arséniate de potasse un ferment non habitué, n'ayant jamais subi l'action de ce toxique, et nous avons chaque jour déterminé l'acidité des cultures de 24 heures résultant de ce premier ensemencement sur le milieu arsenical. En moyenne, pour la durée de l'expérience, cette acidité est égale à 43 p. 100 de celle des cultures-témoins, mais d'un jour à l'autre des oscillations très amples autour de cette moyenne peuvent être constatées : certains jours, il n'y eut aucun développement ; d'autres fois, au contraire, l'acidité a été, par rapport aux témoins, de 30 à 40 p. 100. Des irrégularités analogues s'observent encore quand les cultures sont ensemencées et dosées toutes les 48 heures, comme si le pourcentage des individus aptes à végéter sur un milieu arsenical subissait dans la culture lactique des fluctuations, qui paraissent même quelquefois se reproduire rythmiquement en fonction du temps.

L'étude des irrégularités de cet ordre, qui nécessite des expériences de très longue durée, n'a pas été faite d'une façon systématique, en sorte que nous n'osons affirmer que les cultures pures régulièrement réensemencées toutes les vingt-quatre ou toutes les quarante-huit heures présentent effectivement des modifications rythmiques de certaines de leurs propriétés physiologiques, en particulier de leur résistance vis-à-vis des substances toxiques. Le fait dont nous avons trouvé une indication mérite néanmoins d'être signalé, d'autant qu'il peut, dans une certaine mesure, expliquer les faits curieux d'accoutumance du ferment lactique à certains milieux arsenicaux. Comme nous l'avons vu (1), cette accoutumance n'est pas graduelle et pro-

(1) CHARLES RICHET et HENRY CARDOT, Mutations brusques dans la formation d'une nouvelle race microbienne. *C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXVIII, p. 657, 31 mars 1919.

gressive, mais s'effectue par étapes, l'activité du ferment présentant en fonction du temps une série d'oscillations de grande amplitude.

D'ailleurs l'étude de l'écart moyen soulève une série de problèmes difficiles et intéressants. Elle a été à peine abordée encore.

La notion générale adoptée par tous les physiologistes, depuis Claude Bernard surtout, est que, dans des conditions identiques, les phénomènes identiques se manifestent, et qu'il y a dans les phénomènes de la vie autant de régularité que dans les phénomènes physico-chimiques, quand on se met dans des conditions identiques. Et certes, il ne nous viendra pas à l'esprit de contester cette loi fondamentale, loi sans laquelle notre science n'existerait pas.

Néanmoins, même dans les sciences physico-chimiques, même quand on s'est placé dans des conditions en apparence identiques, il se manifeste des différences; il y a un écart entre les chiffres qui indiquent une réaction un peu différente, alors que tout semble identique. Par exemple, si l'on mélange de l'acide sulfurique et de l'alcool éthylique en proportions égales, dans cinquante flacons identiques, à la même température et pendant le même temps, la quantité d'éther formée ne sera pas identiquement la même. La différence est due aux erreurs expérimentales, erreurs telles que, même quand on a apporté le plus grand soin à les éliminer, jamais il n'y a deux masses matérielles identiques. A la cinquième, à la dixième, mettons à la vingtième décimale, elles devront différer.

Mais il n'est plus question ici d'erreurs expérimentales. Alors que nous devons supposer que toutes les portions d'acide sulfurique et d'alcool mises en réaction sont identiques entre elles — ce n'est pas prouvé, mais c'est très probable — *il n'en est pas de même pour desensemencements microbiens.*

Fatalement des amas de cellules bactériennes doivent différer de nombre, de forme, de propriétés biologiques. Au début la différence n'apparaîtra pas; car, si l'on a bien opéré, les amas de cellules bactériennes sont presque identiques; mais au bout de quelques heures les minimales différences, qui existaient virtuellement, se manifesteront.

Prenons une comparaison. On a semé des grains de blé dans un champ; nous supposons qu'on les a pris d'un même épi, tous de même poids, de même couleur, de même âge. Tout de même, malgré toutes les plus minutieuses précautions pour que les ensemencements soient identiques, il y aura, au bout de deux mois, des plants assez dissemblables.

Par conséquent, même quand les conditions extérieures nous paraissent identiques, les croissances sont différentes. Ces différences tiennent-elles à des conditions différentes *extérieures* ou *intérieures*? Autrement dit, s'il y a des croûts différents, est-ce parce que le terrain, l'exposition, la température sont variables (conditions extérieures) ou bien parce que les grains de blé avaient chacun un *potentiel de croût* différent (conditions intérieures)?

Par une analyse attentive des conditions extérieures, on peut arriver à éliminer, à peu près complètement, celles qui sont perturbatrices, tandis que rien ne peut nous révéler la différence du potentiel de croissance entre deux grains de blé de même poids, de même couleur, de même âge. La complexité de structure d'un grain de blé, énorme par rapport à celle d'un cristal de carbonate de soude, fait qu'il y a certainement plus de différence entre deux grains de blé, d'apparence identique, qu'entre deux cristaux de carbonate de soude, d'apparence identique. Et cependant il y a certainement entre deux cristaux de carbonate de soude des différences.

Donc, quand nous ensemençons une culture avec des bactéries, nous ensemençons des germes très différents, qui vont croître très différemment; et l'écart observé entre les croûts exprimera numériquement ces différences. Or nous croyons avoir assez bien opéré pour que les conditions extérieures, qui relèvent de notre *modus operandi*, soient identiques, ou à peu près. Donc les différences sont dues à des divergences individuelles entre les bactéries ensemencées (différences *intérieures*, qui échappent à toute appréciation).

On voit combien, à l'envisager ainsi, la question s'élargit. L'individualité des cellules bactériennes n'a pas encore été abordée. Il est probable que cette étude mènerait à des résultats très intéressants. Chez les êtres supérieurs, l'individualité est très marquée. Deux oursins, sont, quoi qu'on fasse, deux

individus assez différents : combien plus deux cobayes ? Combien plus encore deux hommes ?

Nous nous proposons d'examiner plus tard jusqu'à quel point, dans quelques espèces bactériennes, il y a des écarts d'individualité. Nous n'avons étudié encore que le ferment lactique, et parmi ces ferments lactiques une seule espèce. Or il est vraisemblable que chaque espèce a son écart moyen particulier, qui indique les degrés de la variation individuelle : autrement dit, très probablement, de même que pour les animaux supérieurs, pour les microbes le coefficient de variation individuelle est différent d'une espèce à l'autre.

Quoi qu'il en soit, pour en revenir à nos expériences, nous avons pu prouver que les variations individuelles sont d'autant plus apparentes que les conditions de culture sont plus défavorables. Dans un milieu très nutritif, l'écart moyen est faible ; il devient très grand quand le milieu est anormal ou toxique. Sans doute c'est là une loi très générale. Pour une portée de lapins très bien nourris, la croissance est à peu près la même, maximale, par exemple. Au contraire, si ces jeunes lapins n'ont qu'une alimentation insuffisante, quelques-uns croîtront à peine, et même périront ; les autres auront un développement presque normal.

Si même on voulait pousser cette étude plus loin, il faudrait voir pourquoi avec certains poisons (chez les animaux supérieurs) la dose toxique est toujours à peu près la même, pour des individus identiques et de même espèce ; tandis qu'avec d'autres poisons, la dose toxique est très variable (avec un écart moyen considérable). Cela permettrait peut-être de connaître, une fois que l'élément sur lequel porte le poison aura été précisé, quels sont, chez les animaux (d'une même espèce) les éléments variables d'un individu à l'autre. Par exemple, la dose convulsante de cocaïne est très constante, d'un individu à un autre, tandis que la dose toxique de muscarine est très différente (écart moyen considérable). Est-ce parce que l'action de la muscarine et celle de la cocaïne portent sur des cellules nerveuses différentes ?

Bien entendu, dans ce travail de bactériologie générale, nous n'avons pu traiter, même à l'état d'ébauche, toutes ces graves

questions. Nous voulons simplement dire ici que nous y avons pensé.

Les variations de l'individualité pour une même espèce prendront, pensons-nous, une importance croissante dans la physiologie.

CONCLUSIONS

1° Sur un milieu non additionné de toxique, on constate, entre des tubes de culture ensemencés simultanément et d'une façon identique et mis à fermenter dans des conditions semblables, de légères irrégularités de croissance, qui peuvent être mises en évidence par l'écart moyen de la moyenne des acidités formées dans le même temps (écart absolu). Cet écart, très faible dans les premières heures de la fermentation, augmente avec l'acidité dans une première période, atteint un maximum et décroît ensuite, lorsque l'acidité moyenne approche de l'acidité limite. Ce phénomène est d'autant plus marqué que l'ensemencement des tubes est moins abondant et que le milieu utilisé se prête moins à une rapide multiplication du ferment.

2° L'addition de la plupart des substances antiseptiques exagère ces irrégularités, qui sont maxima en présence du bichlorure de mercure, du nitrate d'argent ou du phénol, types d'antiseptiques irréguliers.

Quelques rares substances sont sans influence : même, certaines substances comme le fluorure de sodium, semblent atténuer les irrégularités (antiseptiques réguliers).

3° Il ne paraît pas possible de relier directement ce phénomène de l'irrégularité à une cause physique ou chimique. On doit probablement lui reconnaître pour cause une variable résistance des individus microbiens d'une même culture vis-à-vis des toxiques, résistance qui, par conséquent, est en liaison étroite avec les phénomènes d'accoutumance. Placé dans un milieu additionné d'un antiseptique irrégulier dont il subit pour la première fois l'action, le ferment lactique pousse d'une façon très irrégulière; au contraire, une race depuis longtemps accoutumée à ce même milieu toxique y présente de petits écarts, comparables à ceux d'un ferment témoin cultivé sur milieu normal, non antiseptisé.

ACTION DE L'ÉTHER SUR LE VIRUS RABIQUE

par P. REMLINGER.

(Premier mémoire.)

L'action de l'éther sur le virus rabique n'a été que peu étudiée. Seul, à notre connaissance, et dès les premiers temps de l'Ecole Pasteurienne, E. Roux (1) a fait des expériences sur ce sujet. Il suspendait dans un flacon contenant de l'éther saturé d'eau les cerveaux rabiques. De ceux-ci s'écoulait goutte à goutte un liquide qui se rassemblait au fond du vase, en même temps que l'éther pénétrait jusqu'au centre de la substance nerveuse. E. Roux obtenait ainsi d'une part un exsudat cellulaire non coagulé, de l'autre la matière nerveuse dans laquelle le virus était tué. En injectant à des lapins, séparément ou conjointement, ces deux substances, il est arrivé — particulièrement avec la substance cérébrale — à conférer l'immunité. Des essais de traitement des personnes mordues ont même été commencés.

Sans connaître ces recherches mais guidé par les travaux de H. VINCENT sur l'atténuation par l'éther des virus typhoïdique, cholérique... etc., nous avons eu recours à la technique suivante: L'encéphale d'un lapin mort du virus fixe est immergé dans l'éther sulfurique d'un petit flacon pot-ban. On note l'heure de l'immersion, puis, à intervalles réguliers, on pratique dans ce cerveau des prélèvements superficiels d'abord, de plus en plus profonds ensuite, centraux pour terminer. La substance nerveuse est émulsionnée dans l'eau physiologique et inoculée chaque fois sous la dure-mère d'un lapin et d'un cobaye. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau I. Il va de soi qu'au cours de ces opérations des précautions sont à prendre pour débarrasser la substance nerveuse de l'éther qui pourrait lui adhérer, l'injection sous la dure-mère ou dans le cerveau du lapin ou du cobaye de traces même minimales d'éther

(1) Recherches inédites, communiquées personnellement.

exposant ces animaux à des accidents nerveux et pulmonaires le plus souvent mortels (congestion et œdème pulmonaires intenses à l'autopsie).

TABLEAU I. — Virulence pour la dure-mère du lapin et du cobaye des parties superficielle et profonde de cerveaux de lapin immergés dans l'éther.

| DURE-MÈRE DU LAPIN (1/2 cent. cube d'émulsion à 1/100), | | | | DURE-MÈRE DU COBAYE (1/5 cent. cube d'émulsion à 1/100) | | | |
|------------------------------------------------------------|---------------|----------------------------|---------------|------------------------------------------------------------|---------------|----------------------------|---------------|
| PARTIES SUPERFICIEL. | | PARTIES PROFONDES | | PARTIES SUPERFICIEL. | | PARTIES PROFONDES | |
| DURÉE de l'immersion | RÉSUL- TAT | DURÉE de l'immersion | RÉSUL- TAT | DURÉE de l'immersion | RÉSUL- TAT | DURÉE de l'immersion | RÉSUL- TAT |
| 36 heures | + | 60 heures | + | 40 heures | + | 60 heures | + |
| 38 — | + | 70 — | + | 45 — | + | 70 — | + |
| 40 — | + | 75 — | + | 50 — | + | 75 — | + |
| 45 — | + | 85 — | + | 55 — | + | 85 — | + |
| 48 — | + | 90 — | + | 60 — | + | 90 — | + |
| 50 — | + | 95 — | + | 62 — | — | 95 — | + |
| 52 — | — | 100 — | + | 65 — | + | 100 — | + |
| 53 — | + | 105 — | — | 68 — | — | 105 — | + |
| 55 — | — | 110 — | + | 70 — | — | 110 — | + |
| 60 — | — | 115 — | — | 72 — | — | 115 — | + |
| 62 — | — | 120 — | + | 75 — | — | 120 — | — |
| 65 — | — | 120 — | — | 80 — | — | 125 — | — |
| | | 125 — | — | | | 130 — | + |
| | | 130 — | — | | | 135 — | — |
| | | 135 — | — | | | 140 — | — |
| | | 140 — | — | | | 145 — | — |
| | | 140 — | — | | | 150 — | — |

Il résulte des données qui précèdent que la perte de virulence de la substance nerveuse s'effectue lentement en allant de la périphérie au centre. Après soixante heures en moyenne de séjour dans l'éther (un peu moins pour la dure-mère du lapin, un peu plus pour celle du cobaye) les couches superficielles des hémisphères cérébraux sont devenues complètement inoffensives. On peut suivre dans l'épaisseur de la substance cérébrale la disparition graduelle du pouvoir pathogène et, pour un encéphale de lapin d'un poids moyen de 8 grammes, fixer à 120, 125 heures le moment où les parties les plus centrales ont perdu leur virulence au point qu'une émulsion à 1/100 inoculée à la

TABLEAU II. — Immunisation du lapin contre l'inoculation sous-dure-mérienne de virus fixe au moyen de cerveaux rabiques traités par l'éther.

| N° du lapin | ÉPOQUE de l'immunisation | DURÉE du séjour dans l'éther et taux d'émulsion | QUANTITÉ d'émulsion inoculée | ÉPREUVES SUBIES | RÉSULTATS | OBSERVATIONS |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 1 | 28 juillet 27 août 1917. | 25 h. : 1, 100 | 140 c. c. | Trépané les 5 sept., 5 oct., 5 nov., 20 nov. 1917, 8 avril, 26 juillet, 11 novembre 1918, 20 février 1919. | A résisté à toutes les inoculations. | Est encore aujourd'hui vivant et bien portant. |
| 2 | Id. | Id. | Id. | Trépané le 5 septembre. | A succombé le 28 septembre à une affection intercurrente non rabique. | Passages négatifs. |
| 3 | Id. | Id. | Id. | Inoculé sans succès dans la chambre antérieure, le 5 septembre. Trépané le 5 octobre. | Mort de rage le 15 octobre. | 1 jour de retard sur le témoin. |
| 4 | Id. | Id. | Id. | Inoculé sans succès dans la chambre antérieure, le 5 septembre. Trépané le 5 octobre. | Mort de rage le 15 octobre. | 1 jour de retard sur le témoin. |
| 5 | Id. | Id. | Id. | Inoculé sans succès dans la chambre antérieure, le 5 septembre. Trépané le 5 octobre. | A succombé le lendemain de la trépanation à des accidents méningés. | " |
| 6 | 14 septembre 16 oct. 1917. | Id. | 120 c. c. | Trépané le 29 octobre. | Mort de rage le 8 novembre. | 1 jour de retard sur le témoin. |
| 7 | Id. | Id. | Id. | Trépané sans succès le 29 octobre. Trépané à nouveau le 20 novembre. | Mort de rage le 4 ^{er} décembre. | 2 jours de retard sur le témoin. |

| | | | | | | | |
|----|----------------------------|-------------|-----|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 8 | Id. | Id. | Id. | Id. | Trépané le 29 octobre. | A succombé le surlendemain de la trépanation à des accidents méningés. | |
| 9 | Id. | Id. | Id. | Id. | Trépané le 29 octobre. | Mort de rage le 9 novembre. | 2 jours de retard sur le témoin. |
| 10 | Id. | Id. | Id. | Id. | Trépané le 29 octobre. | Mort de rage le 13 novembre. | 6 jours de retard sur le témoin. |
| 11 | 3 octobre 15 nov. 1917. | Id. | Id. | 150 c. c. | Trépané le 27 novembre. | Mort de rage le 14 décembre. | 3 jours de retard sur le témoin. |
| 12 | Id. | Id. | Id. | Id. | Trépané les 27 novembre et 23 décembre 1917, les 8 avril et 26 juillet 1918, le 20 février 1919. | Mort le 13 octobre, après avoir présenté pendant un mois des phénomènes paralytiques dont l'absence de caractère rabique a été démontrée par les passages. | Observation relatée plus loin. |
| 13 | Id. | Id. | Id. | Id. | Trépané le 27 novembre. | Mort de rage le 14 décembre. | 6 jours de retard sur le témoin. |
| 14 | Id. | 24 h.; 4/50 | Id. | Id. | Trépané le 27 novembre. | Mort de rage le 15 décembre. | 7 jours de retard sur le témoin. |
| 15 | Id. | Id. | Id. | Id. | Trépané les 27 novembre et 23 décembre 1917; les 8 avril, 26 juillet, 11 novembre 1918, le 20 février 1919. | A résisté à toutes les inoculations. | Est encore aujourd'hui vivant et bien portant. |
| 16 | 3 octobre 30 nov. 1917. | Id. | Id. | 200 c. c. | Trépané le 5 décembre. | Mort de rage le 16 décembre. | 2 jours de retard sur le témoin. |
| 17 | Id. | Id. | Id. | Id. | Trépané le 5 décembre. | Mort de rage le 17 décembre. | 3 jours de retard sur le témoin. |
| 18 | Id. | Id. | Id. | Id. | Trépané le 5 décembre. | Mort de rage le 17 décembre. | 3 jours de retard sur le témoin. |

| N ^o du lapin | ÉPOQUE de l'immunisation | DURÉE du séjour dans l'éther et taux d'émulsion | QUANTITÉ d'émulsion inoculée | ÉPREUVES SUBIES | RÉSULTATS | OBSERVATIONS |
|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------|
| 19 | 3 octobre 30 nov 1917. | 24 h.; 4/50 | 200 c. c. | Trépané le 5 décembre. | Mort de rage le 18 décembre. | 4 jours de retard sur le témoin. |
| 20 | Id. | Id. | Id. | Trépané les 5 et 24 décembre 1917; les 8 avril, 26 juillet, 14 novembre 1918, 20 février 1919. | A résisté à toutes les inoculations. | Est encore aujourd'hui vivant et bien portant. |
| 21 | 18 octobre 29 déc. 1917 | Id. | 250 c. c. | Trépané le 14 janvier. | Mort de rage le 26 janvier. | 4 jours de retard sur le témoin. |
| 22 | Id. | Id. | Id. | Trépané le 14 janvier. | Mort de rage le 25 janvier. | 3 jours de retard sur le témoin. |
| 23 | Id. | Id. | Id. | Trépané le 14 janvier. | Mort de rage le 25 janvier. | 3 jours de retard sur le témoin. |
| 24 | Id. | Id. | Id. | Trépané le 14 janvier. | Mort de rage le 25 janvier. | 3 jours de retard sur le témoin. |
| 25 | 18 octobre 12 janv. 1918. | Id. | 300 c. c. | Trépané le 27 janvier. | Mort de rage le 7 février. | 1 jour de retard sur le témoin. |
| 26 | 18 octobre 23 févr. 1918. | Id. | 500 c. c. | Trépané les 6 mars, 5 avril, 17 mai, 5 septembre, 11 novembre 1918, 22 février 1919. | A résisté à toutes les inoculations. | Est encore aujourd'hui vivant et bien portant. |
| 27 | Id. | Id. | Id. | Trépané sans résultat le 6 mars. Trépané à nouveau le 5 avril. | Mort de rage le 20 avril. | 5 jours de retard sur le témoin. |

| | | | | | | |
|----|------------------------------|--------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| 28 | 18 octobre 22 févr. 1918. | 24 h. ; 4/50 | 500 c. c. | Trépané le 6 mars. | A présent, à partir du 26 mars, des phénomènes paralytiques qui paraissent en voie de guérison lorsque la mort est survenue sub- itement, le 26 avril. | Passages négatifs. Observations relatées plus loin. |
| 29 | 9 décembre 8 févr. 1918. | 48 h. ; 4/50 | 250 c. c. | Trépané le 19 février. | Mort de rage le 2 mars. | 1 jour de retard sur le témoin. |
| 30 | Id. | Id. | Id. | Trépané le 19 février. | Mort de rage le 2 mars. | 1 jour de retard sur le témoin. |
| 31 | 9 décembre 21 févr. 1918. | Id. | 300 c. c. | Trépané le 6 mars. | Mort de rage le 19 mars. | 4 jours de retard sur le témoin. |
| 32 | Id. | Id. | Id. | Trépané les 6 mars, 5 avril, 26 juillet, 11 novembre 1918, 22 février 1919. | A résisté à toutes les ino- culations. | Est encore aujourd'hui vi- vant et bien portant. |
| 33 | 9 décembre 20 mars 1918. | Id. | 500 c. c. | Trépané les 5 avril, 17 mai, 5 septembre, 11 novembre 1918, 22 février 1919. | A résisté à toutes les ino- culations. | Est encore aujourd'hui vi- vant et bien portant. |
| 34 | Id. | Id. | Id. | Trépané le 5 avril 1918 et le 22 février 1919. | A résisté à toutes les ino- culations. | Est encore aujourd'hui vi- vant et bien portant. |
| 35 | 9 décembre 4 avril 1918. | Id. | 700 c. c. | Trépané les 20 avril, 17 mai, 26 juillet, 11 novembre 1918, 22 février 1919. | A résisté à toutes les ino- culations. | Est encore aujourd'hui vi- vant et bien portant. |
| 36 | 9 décembre 30 mars 1918. | Id. | 600 c. c. | Trépané le 19 avril. | Mort de rage le 3 mai. | 4 jours de retard sur le témoin. |
| 37 | Id. | Id. | Id. | Trépané le 19 avril. | Mort de rage le 1 ^{er} mai. | 2 jours de retard sur le témoin. |

dose de $1/2$ cent. cube ne provoque aucune manifestation morbide. Pour la dure-mère du cobaye ($1/5$ cent. cube d'émulsion) ce délai doit être élevé jusqu'à 130-135 heures. Il va de soi que, pour les organes et tissus autres que le système nerveux et pour le tissu cellulaire en particulier, la virulence est détruite bien avant les délais indiqués. Ainsi que nous le verrons, c'est un point qu'il ne faut pas perdre de vue dans la fixation du nombre d'heures qu'un cerveau doit passer dans l'éther avant de pouvoir être utilisé comme vaccin.

Sans doute parce qu'ils sont privés de leurs matières grasses les cerveaux ayant séjourné dans l'éther s'émulsionnent dans l'eau physiologique avec une extrême facilité. Il était intéressant de rechercher quel était le pouvoir immunisant des émulsions ainsi obtenues. Deux séries d'expériences ont été entreprises pour essayer de déterminer ce pouvoir. Les unes ont porté sur le lapin ; les autres sur le cobaye.

I. — EXPÉRIENCES SUR LE LAPIN

37 lapins ont reçu sous la peau en un nombre variable de fois de 110 à 700 cent. cubes d'une émulsion à $1/100$ ou à $1/50$ de cerveaux ayant séjourné de vingt-quatre à quarante-huit heures dans l'éther (1). Quinze jours après la dernière inoculation, les animaux étaient éprouvés, exceptionnellement dans la chambre antérieure, presque toujours sous la dure-mère ($1/2$ cent. cube d'émulsion de virus fixe à $1/100$). Lorsque le résultat était négatif, l'opération était répétée tous les mois ou tous les deux mois afin d'apprécier la durée de l'immunité. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau II.

Des 37 lapins inoculés, 2 ont donc succombé à des accidents opératoires et ne peuvent entrer en ligne de compte. 8 lapins

(1) Un 38^e lapin a succombé, en cours d'immunisation, à une rage conférée par les inoculations vaccinales. Le 18 octobre 1917, il avait reçu sous la peau 20 cent. cubes d'une émulsion à $1/50$ d'un cerveau ayant séjourné vingt-quatre heures dans l'éther. L'injection est répétée aux mêmes doses les 24 et 30 octobre. Premiers symptômes de rage paralytique le 2 novembre. Mort le 5. Le fait que ce cas est demeuré unique permet d'apprécier l'écart entre la virulence pour le système nerveux et le tissu cellulaire.

ont montré une immunité extrêmement solide. Ils ont résisté à 2 trépanations (1 lapin); 5 trépanations (3 lapins); 6 trépanations (3 lapins); 8 trépanations (1 lapin). Ces 8 lapins sont encore vivants et bien portants à l'heure actuelle, soit deux ans et plus après la première inoculation sous-dure-mérienne. 3 lapins, après avoir été trépanés une ou plusieurs fois sans succès, ont succombé ensuite à une affection non rabique. 2 lapins, après avoir résisté à une première trépanation, ont succombé à une deuxième. 2 lapins, après avoir résisté à une inoculation de virus fixe dans la chambre antérieure, sont morts à la suite d'une inoculation sous-dure-mérienne. Enfin 20 lapins sont morts dès la première trépanation avec un retard de 1 à 7 jours sur les témoins.

Cependant on sait que les moelles rabiques perdent le plus souvent en même temps que leur pouvoir pathogène une grande partie de leur vertu immunisante et que les meilleurs vaccins sont constitués par des moelles à la limite de la virulence. 12 lapins ont donc reçu sous la peau, du 5 mars au 12 juillet 1918, de 300 à 1.000 cent. cubes d'une émulsion à 1/50 de cerveaux de lapins rabiques ayant séjourné quatre-vingt-seize heures dans l'éther. Quinze jours après la dernière injection sous-cutanée, ils ont été éprouvés soit dans la chambre antérieure, soit sous la dure-mère dans les mêmes conditions que les animaux du groupe précédent. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau III.

Ainsi, 2 lapins ont résisté à toutes les trépanations successives et sont actuellement encore vivants et bien portants; 2 lapins ayant résisté l'un à une, l'autre à deux trépanations ont succombé ensuite à une affection (diarrhée, broncho-pneumonie) n'ayant aucun rapport avec la rage; 1 lapin ayant résisté à une première trépanation est mort de la seconde, mais après onze jours de maladie et avec un retard de dix jours sur le témoin; 3 lapins ont résisté à l'épreuve de la chambre antérieure mais ont succombé à celle de la dure-mère, après dix jours de maladie et avec un retard de neuf jours sur le témoin, dans une observation. Enfin 4 lapins ont succombé dès la première inoculation sous-dure-mérienne mais avec un retard sur les témoins qui, dans un cas, s'est élevé jusqu'à dix jours. Les résultats sont, on le voit,

TABLEAU III. — Immunisation du lapin contre l'inoculation sous-dure-mérienne de virus fixe au moyen de cerveaux rabiques traités 96 heures par l'éther.

| N° du lapin | ÉPOQUE de l'immunisation | DURÉE du séjour dans l'éther et taux d'émulsion | QUANTITÉ d'émulsion inoculée | ÉPREUVES SUBIES | RÉSULTATS | OBSERVATIONS |
|-------------|--------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------|
| 1 | 5 mars-10 mai 1918 | 96 h. 1/50 | 300 c. c. | Inoculé sans succès dans la chambre antérieure le 25 mai. Trépané le 25 juin. | Mort de rage le 6 juillet. | 4 jour de retard sur le témoin. |
| 2 | Id. | Id. | Id. | Inoculé sans succès dans la chambre intérieure le 25 mai. Trépané le 25 juin. | Mort de rage le 8 juillet. | 3 jours de retard sur le témoin. |
| 3 | Id. | Id. | Id. | Trépané le 25 mai. | Mort de rage le 7 juin. | 4 jour de retard sur le témoin. |
| 4 | 5 mars-28 mai 1918 | Id. | 500 c. c. | Trépané le 12 juin. | Mort de rage le 25 juin. | 1 jour de retard sur le témoin. |
| 5 | Id. | Id. | Id. | Inoculé sans succès dans la chambre antérieure le 12 juin. Trépané les 12 juillet 1918 et le 20 février 1919. | A résisté à toutes les inoculations. | Est encore aujourd'hui vivant et bien portant. |

| | | | | | | |
|----|----------------------------|-----|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| 6 | 5 mars-14 juin 1918 | Id. | 700 c. c. | Trépané le 29 juin. | Mort de rage le 14 juillet. | 5 jours de retard sur le témoin. |
| 7 | Id. | Id. | Id. | Inoculé sans succès dans la chambre antérieure le 29 juin. Trépané le 29 juillet. | Mort de rage le 19 août. | Mort après 40 jours de maladie et avec un retard de 9 jours sur le témoin. |
| 8 | 5 mars-23 juin 1918 | Id. | 800 c. c. | Inoculé sans succès dans la chambre antérieure le 8 juillet. Trépané les 8 août, 5 septembre, 11 novembre 1918 et 20 février 1919. | A résisté à toutes les inoculations. | Est encore aujourd'hui vivant et bien portant. |
| 9 | Id. | Id. | Id. | Trépané sans succès le 8 juillet. Trépané à nouveau le 8 août. | Mort de rage le 29 août. | Mort après 41 jours de maladie et avec un retard de 10 jours sur le témoin. |
| 10 | 5 mars-42 juillet 1918. | Id. | 1.000 c. c. | Trépané sans succès le 27 juillet. | Mort de diarrhée le 4 septembre. | » |
| 11 | Id. | Id. | Id. | Trépané sans succès le 27 juillet et le 5 septembre. | Mort de pneumonie le 26 octobre. | » |
| 12 | Id. | Id. | Id. | Trépané le 27 juillet. | Mort de rage le 17 août. | Retard de 40 jours sur le témoin. |

sensiblement identiques à ceux obtenus dans la série d'expériences précédentes.

On sait combien il est difficile de vacciner le lapin contre l'inoculation sous-dure-mérienne de virus fixe. On sait aussi que, le cas échéant, la durée de l'immunisation obtenue est le plus souvent très éphémère. La proportion élevée (17/49, soit 34 p. 100) des animaux qui, une fois au moins, dans les expériences qui précèdent n'ont pas réagi à la trépanation; l'immunité extrêmement solide conférée à un grand nombre d'entre eux témoignent manifestement des propriétés vaccinantes des émulsions de cerveaux rabiques traités par l'éther. A ce que dans ces expériences le degré de l'immunité n'ait pas toujours été en raison directe de la quantité d'émulsion injectée ou en raison inverse de la durée d'immersion du cerveau dans l'éther, il ne saurait certes y avoir matière à surprise étant donnée la sévérité pour le lapin de l'inoculation sous-dure-mérienne du virus fixe. La sévérité de cette épreuve constituant jusqu'à un certain point une cause d'erreur dans l'appréciation du degré d'immunité, une deuxième série d'expériences a été entreprise sur des cobayes, qui ont été éprouvés dans les muscles au lieu de l'être dans le cerveau.

II. — EXPÉRIENCES SUR LES COBAYES

EXPÉRIENCE I (*préventive*). — Trois lots de douze cobayes chacun reçoivent respectivement sous la peau, à quelques jours d'intervalle, 60, 80 ou 100 cent. cubes d'une émulsion à 1/50 d'un cerveau de lapin virus fixe ayant séjourné quatre-vingt-seize heures dans l'éther. Quinze jours après la dernière injection, ils sont inoculés dans les muscles de la nuque avec 2 cent. cubes d'une émulsion à 1/100 de virus rabique fixe. Aucun de ces trois lots n'a présenté de mortalité, tandis que douze cobayes témoins, ayant simplement reçu dans la nuque l'inoculation d'épreuve précitée, ont donné 9 morts et 3 survies.

Deux autres lots de douze cobayes chacun reçoivent sous la peau respectivement 20 et 40 cent. cubes d'une émulsion à 1/50 d'un cerveau de lapin virus fixe ayant séjourné quatre-vingt-seize heures dans l'éther. Ils sont éprouvés quinze jours plus

tard par l'inoculation dans les muscles de la nuque de 2 cent. cubes d'une émulsion de virus fixe à 1/100. Le premier lot (40 cent. cubes) a donné 3 morts et 9 survies; le deuxième (20 cent. cubes), 5 morts et 7 survies. Douze cobayes témoins ayant simplement reçu dans la nuque 2 cent. cubes d'émulsion à 1/100 ont également donné 5 morts et 7 survies.

EXPÉRIENCE II (*curative*). — 24 cobayes reçoivent le 29 mai 1918, dans les muscles de la nuque, 2 cent. cubes d'une émulsion de virus rabique fixe à 1/100. 12 d'entre eux sont conservés comme témoins et fournissent 7 morts et 5 survies. Les 12 autres reçoivent sous la peau, à partir du lendemain, 60, 80 ou 100 cent. cubes d'une émulsion à 1/50 d'un cerveau de lapin virus fixe ayant séjourné soixante-douze heures dans l'éther. Les 4 cobayes ayant reçu sous la peau 60 cent. cubes d'émulsion ont survécu, de même que ceux qui ont reçu 100 cent. cubes. Les 4 cobayes ayant reçu sous la peau 80 cent. cubes d'émulsion ont donné 1 mort de rage et 3 survies.

*
* *

Nous avons montré autrefois (1) que la stérilisation par l'éther faisait perdre au virus filtré à travers la bougie Berkefeld V ses propriétés immunisantes et avons tiré de ce fait une nouvelle preuve du passage du virus rabique à travers les filtres (2). Il n'existe aucune contradiction entre ces expériences et celles qui précèdent, le virus qui a traversé les bougies étant, comme l'ont démontré en particulier les travaux de DI VESTEA, beaucoup plus sensible que le virus ordinaire à toutes les causes d'atténuation ou de destruction. Il nous a semblé au contraire que les résultats qui viennent d'être mentionnés étaient assez satisfaisants pour qu'on pût les appliquer à la pratique des vaccinations, à la vaccination des herbivores en particulier. Les

(1) P. REMLINGER. Le passage du virus rabique à travers les filtres. Ces *Annales*, 1903, p. 844.

(2) Le filtrat Berkefeld V immunise le lapin contre la rage. Cette immunisation peut être le fait du virus, des cadavres microbiens ou de la toxine. Elle ne paraît causée ni par les cadavres microbiens, puisque le filtrat V n'immunise pas, ni par la toxine puisque le filtrat V traité par l'éther n'immunise pas davantage. Il reste donc qu'elle soit produite par le virus lui-même qui, en conséquence, doit traverser Berkefeld V.

expériences ont porté sur la chèvre et leurs résultats ont été satisfaisants. Les épisodes suivants en témoignent.

EXPÉRIENCE I. — Le 1^{er} septembre 1918, 4 jeunes chèvres reçoivent dans les muscles de la nuque, profondément, au contact de la colonne vertébrale, 10 cent. cubes d'une émulsion d'un virus rabique de rue amenant par inoculation sous-dure-mérienne la mort du lapin en quatorze jours. Deux d'entre elles sont conservées comme témoins. Les 2 autres reçoivent sous la peau le 2 septembre — soit vingt-quatre heures après l'inoculation — l'émulsion dans 140 cent. cubes d'eau physiologique d'un petit cerveau de lapin virus fixe (5 grammes, soit 2 gr. 50 pour chaque chèvre) ayant séjourné soixante-quatre heures dans l'éther. Le 3 septembre, elles reçoivent chacune un demi-cerveau (3 grammes) de lapin virus fixe ayant baigné soixante-quatre heures dans l'éther et émulsionné dans 125 cent. cubes d'eau physiologique. La vaccination se termine le 4 septembre par l'inoculation sous-cutanée d'un cerveau de 6 grammes (3 grammes pour chaque chèvre) ayant séjourné quarante-huit heures dans l'éther et émulsionné dans 125 cent. cubes d'eau. Ces deux chèvres ont survécu. Des deux témoins, l'un a survécu ; l'autre a présenté le 6 octobre, au trente-cinquième jour, les premiers signes de la rage. Mort quatre jours plus tard le 10 octobre.

Cette expérience ayant montré que l'inoculation d'épreuve n'était pas assez sévère (survie d'un des témoins) nous l'avons recommencée de la façon suivante :

EXPÉRIENCE II. — Le 28 octobre 1918, 8 chèvres reçoivent dans les muscles de la nuque, très profondément, au contact de la colonne vertébrale, 20 cent. cubes d'une émulsion à 1/50 d'un virus rabique de rue amenant par inoculation sous-dure-mérienne la mort du lapin en quatorze jours. Elles sont ensuite réparties en deux lots destinés l'un à être soumis à la vaccination, l'autre à servir de témoins.

2 des chèvres du premier lot reçoivent sous la peau, chacune, deux jours et trois jours après l'inoculation virulente, l'émulsion entière dans 150 cent. cubes d'eau d'un cerveau de lapin virus fixe ayant séjourné soixante-douze heures dans l'éther (poids des cerveaux : 6 gr. 50, soit 13 grammes de substance nerveuse pour

chaque chèvre). Les deux autres animaux reçoivent une émulsion identique (deux cerveaux : 13 grammes de substance cérébrale) trois et quatre jours seulement après l'inoculation.

Les témoins ont succombé à la rage respectivement 23, 45, 49 et 68 jours après l'inoculation virulente. Le diagnostic a été confirmé chaque fois par des passages. Tous les vaccinés ont résisté.

Une neuvième chèvre ayant reçu sous la peau, à raison de deux cerveaux par jour, une dose d'émulsion vaccinante double de celle des animaux précédents (4 cerveaux ayant séjourné soixante-douze heures dans l'éther) n'a présenté consécutivement aucun symptôme morbide tel que paralysie, cachexie, amaigrissement, ... etc.

L'innocuité de l'injection sous-cutanée de fortes doses d'émulsion de cerveaux rabiques traités par l'éther est pour la pratique de ce mode de vaccination d'une importance capitale. Nous avons donc cherché à établir cette innocuité par des expériences portant sur différentes espèces animales. Nous ne nous dissimulons pas toutefois que les résultats obtenus ne sont pas nécessairement applicables à l'homme.

Chien. — 1° Le 17 avril 1919, le cerveau entier (9 grammes) d'un lapin ayant succombé au virus fixe a séjourné quatre-vingt-seize heures dans l'éther. Il est émulsionné finement dans 170 cent. cubes d'eau physiologique et inoculé en une fois sous la peau d'une jeune chienne. Aucun symptôme morbide.

2° Le 18 avril 1918, un deuxième chien reçoit sous la peau un cerveau entier (7 grammes) de lapin mort de virus fixe immergé dans l'éther pendant soixante-douze heures. Même inoculation le surlendemain avec un deuxième cerveau (6 gr. 50) ayant séjourné soixante heures dans l'éther. Aucun symptôme morbide, en particulier ni paralysie ni amaigrissement.

3° Le 23 février 1919, on injecte sous la peau d'un chien l'émulsion dans 150 cent. cubes d'eau de deux cerveaux de lapins morts du virus fixe. L'un de ces cerveaux (7 gr.) a été maintenu dans l'éther pendant soixante-douze heures; l'autre (6 gr. 50) pendant quarante-huit heures. Aucun symptôme morbide chez l'animal inoculé.

Chèvre. — Le 9 avril 1918, une chèvre reçoit sous la peau du ventre un cerveau entier (8 grammes) de lapin virus fixe ayant

séjourné quatre-vingt-seize heures dans l'éther et finement émulsionné dans 300 cent. cubes d'eau physiologique. L'expérience est répétée le surlendemain avec un deuxième cerveau de 8 grammes ayant également séjourné quatre-vingt-seize heures dans l'éther. **Aucun symptôme morbide.**

Chat. — Le 12 avril 1918, un chat reçoit sous la peau du ventre un cerveau entier (8 grammes) de lapin virus fixe, ayant séjourné quatre-vingt-seize heures dans l'éther et finement émulsionné dans 200 cent. cubes d'eau physiologique. **Aucun symptôme morbide.**

Cobaye. — Le 24 avril 1918, deux cobayes pesant l'un 807, l'autre 827 grammes, reçoivent chacun sous la peau un cerveau de lapin virus fixe du poids de 8 grammes, ayant séjourné quatre-vingt-seize heures dans l'éther et émulsionné dans 150 cent. cubes d'eau physiologique. **Aucun symptôme morbide.**

Rat. — Le 17 février 1919, le cerveau (8 grammes) d'un lapin mort de virus fixe est retiré de l'éther où il a été immergé soixante-douze heures et émulsionné dans 80 cent. cubes d'eau physiologique. Quatre rats blancs reçoivent sous la peau chacun 20 cent. cubes de cette émulsion, soit 2 grammes de substance nerveuse. On n'observe chez eux absolument aucun symptôme morbide.

Singe (Papion du Sénégal). — Reçoit sous la peau de l'abdomen, le 16 février 1919, un cerveau entier (8 grammes) de lapin virus fixe ayant séjourné quatre-vingt-quinze heures dans l'éther et émulsionné dans 100 cent. cubes d'eau salée.

Aucun symptôme morbide. Le 7 mars, l'expérience est répétée avec deux cerveaux (15 grammes de substance nerveuse) ayant baigné dans l'éther soixante-douze heures et émulsionnés dans 200 cent. cubes d'eau physiologique. **Aucune particularité à signaler.**

Lapin. — 1° Le 25 mars 1918, un cerveau entier de lapin (6 grammes) mort du virus fixe est retiré de l'éther dans lequel il a baigné quatre-vingt-seize heures, émulsionné dans 180 cent. cubes d'eau physiologique et inoculé en totalité sous la peau d'un lapin de 1.500 grammes. **Aucun symptôme morbide.**

2° Le 27 mars 1918, un lapin de 1.500 grammes reçoit sous la peau, émulsionné dans 180 cent. cubes d'eau salée, le cerveau entier (7 grammes) ayant séjourné quatre-vingt-seize heures

dans l'éther d'un lapin mort du virus fixe. Il se porte très bien les jours suivants. Le 30 mars, il reçoit de même, sans accuser la moindre réaction, un cerveau de lapin virus fixe (8 grammes, soixante-douze heures d'éther) émulsionné dans 180 cent. cubes d'eau. Le 5 avril, inoculation d'un troisième cerveau (7 gr. 50, soixante-douze heures d'éther). Le lapin est demeuré très bien portant et n'a présenté en particulier ni paralysie, ni amaigrissement.

On a vu également, au début de ce travail, que de nombreux lapins avaient reçu sous la peau, sans en être incommodés, des quantités d'émulsions de cerveaux ayant séjourné dans l'éther, bien supérieures à celles qui seront jamais employées dans un but thérapeutique (500, 600, 700, 800, 1.000 cent. cubes). Deux fois seulement, nous avons vu des lapins ainsi traités présenter des phénomènes paralytiques, auxquels ils ont fini par succomber et dont l'absence de caractère rabique a été démontrée par les passages. Bien que la relation de cause à effet entre les injections sous-cutanées de substance nerveuse et l'apparition des phénomènes paralytiques ne soit pas de toute évidence, nous tenons à relater ici, en toute impartialité, ces deux observations.

OBSERVATION I. — Un lapin adulte reçoit sous la peau, du 18 octobre 1917 au 22 février 1918, 500 cent. cubes d'une émulsion à 1/50 de cerveaux rabiques ayant séjourné vingt-quatre heures dans l'éther. Il est éprouvé le 6 mars par inoculation sous-dure-mérienne. Vingt et un jours plus tard, le 27 mars, il présente de la chute de la tête par paralysie des muscles de la nuque. Aucune paralysie des membres. Celle-ci apparaît seulement le 3 avril et porte à la fois sur les membres antérieurs et postérieurs. Elle n'est toutefois pas complète et le lapin, tout en vacillant fréquemment, arrive à se tenir à peu près d'aplomb sur ses pattes. Les jours suivants l'état demeure stationnaire. L'animal continue de s'alimenter. Le 8 avril, la parésie paraît localisée au train postérieur et à la nuque. Le train antérieur est redevenu normal. L'appétit est excellent. Tendance à la diarrhée. Le lapin traîne sur le sol de sa cage son train postérieur paralysé et souillé de matières fécales. A partir du 20 avril, on note un peu d'amaigrissement, mais la paralysie est stationnaire et demeure toujours localisée au train postérieur

et à la nuque. Le 26 avril au matin — un mois après le début des phénomènes paralytiques — on est surpris de trouver le lapin mort dans sa cage. La veille, il avait son habitus normal et avait mangé de bon appétit. Autopsie complètement négative. Tous les organes sont sains. La moelle n'est ni congestionnée, ni ramollie. Une émulsion du bulbe est injectée sous la dure-mère de 2 lapins et de 2 cobayes. Tous ces animaux sont demeurés parfaitement portants.

OBSERVATION II. — Une lapine a reçu sous la peau, du 3 octobre au 15 novembre 1917, 150 cent. cubes d'émulsion à 1/50 de cerveaux de lapin virus fixe ayant séjourné vingt-quatre heures dans l'éther. Elle est trépanée sans succès au virus fixe les 27 novembre et 23 décembre 1917, ainsi que les 8 avril et 26 juillet 1918. A partir du 15 septembre (dix mois après la dernière injection sous-cutanée, un mois et demi après la dernière inoculation sous-dure-mérienne), on remarque une certaine difficulté de l'animal à se mouvoir. Celle-ci augmente peu à peu. Le 20 septembre, la paralysie du train de derrière est complète. Les membres antérieurs sont simplement parésiés. L'aspect du lapin serait tout à fait celui d'un lapin rabique si le regard n'avait pas sa vivacité habituelle et si l'appétit n'était pas pleinement conservé. L'état demeure stationnaire les jours suivants. La paralysie des membres antérieurs est toujours une simple parésie. Le cou et la tête sont indemnes. Appétit plutôt exagéré. Vers la fin du mois de septembre, les membres antérieurs et surtout les membres postérieurs se contracturent en extension. Au niveau de ces derniers, il existe un léger degré d'atrophie musculaire. Au commencement d'octobre, on note un amaigrissement progressif bien que l'animal continue de manger avidement ses rations. Il est trouvé mort le 13 octobre au matin après un mois exactement de maladie. L'autopsie ne révèle aucune autre particularité qu'une extrême émaciation. Les passages effectués par le cerveau du lapin et du cobaye sont demeurés négatifs.

Nous avons tenu à publier ces deux observations parce qu'elles présentent quelques analogies avec certains accidents paralytiques observés chez l'homme au cours du traitement antirabique,

et bien qu'apparus chez des lapins trépanés un temps plus ou moins long (de un mois à dix mois) après la dernière injection sous-cutanée les phénomènes paralytiques ne puissent guère être imputés aux inoculations hypodermiques de substance nerveuse traitée par l'éther. Nous ne croyons nullement qu'on puisse tirer de ces faits exceptionnels, susceptibles de recevoir des interprétations très différentes, une contre-indication à la vaccination des herbivores au moyen du virus rabique atténué par l'éther. Les résultats obtenus chez la chèvre peuvent sans nul doute être étendus aux Bovidés, aux Équidés et à tous les Herbivores. Après morsure, il sera désormais possible, semble-t-il, de vacciner ceux-ci très simplement en leur injectant sous la peau en deux ou trois fois, émulsionnés dans de l'eau bouillie, deux ou trois cerveaux entiers de lapin virus fixe ayant séjourné dans l'éther de soixante-quinze à soixante-dix heures et sans doute moins encore.

Nous croyons devoir également attirer l'attention sur les avantages que l'atténuation du virus rabique par l'éther paraît susceptible de présenter pour la vaccination de l'homme. Le procédé est simple, rapide, économique. Il ne nécessite aucune installation spéciale et est à la portée d'un grand nombre de médecins, de tous les Directeurs de Bureaux d'Hygiène et établissements similaires, par exemple. Son emploi constituerait et pour les établissements d'assistance et pour les mordus une grande économie de temps, de travail et d'argent. Nous nous proposons de le mettre en pratique prudemment, conjointement avec le procédé classique d'abord, seul ensuite dès que des circonstances favorables se présenteront. L'Institut Pasteur de Tanger reçoit actuellement un nombre de mordus trop infime pour que cette expérience puisse y être entreprise de façon utile.

ÉTUDE SUR LE BACILLE DU ROUGET

par L. COTONI.

(Avec la planche VII.)

Les recherches, dont nous relatons ici le résultat, avaient été effectuées avant la guerre, au cours de travaux portant sur la virulence en général. Nous examinerons successivement l'origine et les caractères généraux des divers échantillons microbiens, le pouvoir pathogène vis-à-vis de trois espèces animales (souris, pigeon, lapin) et nous rapporterons une auto-observation de rouget, accidentellement inoculé, traité par le sérum spécifique.

ORIGINE DES ÉCHANTILLONS ÉTUDIÉS

Des 11 échantillons qui font l'objet de cette étude, 9 ont été isolés en France à l'autopsie de porcs atteints de rouget, et comprennent les 2 vaccins de Pasteur. Nous remercions vivement MM. Jouan et Césari, qui nous ont confié ces cultures. Quant à 2 autres échantillons, remarquablement peu pathogènes, ils provenaient du laboratoire du professeur Ehrlich.

CARACTÈRES GÉNÉRAUX

MORPHOLOGIE.

L'examen microscopique montre toujours des bacilles immobiles, colorables par la méthode de Gram. Dans les milieux de culture en présence ou en l'absence de l'air, le plus grand nombre des échantillons fournit des formes extrêmement courtes, grêles, et souvent rigides, l'aspect flexueux et filamenteux n'apparaissant jamais ou de façon passagère et partielle ; au contraire les éléments de l'échantillon Königsberg, non pathogène, sont longs et flexueux ; l'échantillon Rosenbach,

peu actif vis-à-vis des animaux, montre un mélange de formes longues et courtes. Dans les humeurs et organes des animaux inoculés, nous n'avons jamais observé les bacilles flexueux que signalent certains auteurs : les germes, plus ou moins courts, extra ou intraleucocytaires, sont en général plus abondants dans le sang de la souris et du pigeon que dans celui du lapin.

CARACTÈRES DE CULTURE.

Le plus souvent il s'agit de cultures obtenues à la température de 37°, en présence de l'air.

Bouillon Martin. — Toujours peu abondantes, elles atteignent leur plus grande richesse avant vingt-quatre heures. Les échantillons doués d'une virulence médiocre fournissent des cultures particulièrement maigres ; nous ne saurions affirmer d'ailleurs que la pauvreté des cultures est un caractère constant des échantillons peu pathogènes. Dans presque tous les cas, le bouillon montre un trouble uniforme et, après agitation, des ondes soyeuses ; parfois des cultures faiblement virulentes ont présenté un dépôt surmonté de liquide un peu trouble ou limpide, mais cet aspect est exceptionnel. La réaction modérément alcaline au tournesol du bouillon employé est demeurée telle quelle après développement microbien.

Bouillon Martin + 1/3 de liquide d'ascite. — Cultures plus abondantes que les précédentes. L'aspect de liquide limpide avec dépôt est moins rare. La réaction alcaline du milieu n'est pas modifiée de façon sensible.

Gélose classique, inclinée. — Colonies très petites, souvent plus fines qu'une tête d'épingle, transparentes.

Gélose ascite. — Colonies d'aspect analogue, en général un peu plus volumineuses.

Gélatine (1). — Après ensemencement, par piqûre, de sang infecté ou de bouillon, les cultures obtenues sont d'aspect variable. En général, on rencontre deux espèces bien différentes de colonies, dont la proportion réciproque varie avec l'échantillon et l'âge de la culture. Les unes (type grenu), plus petites qu'une tête d'épingle, blanchâtres, offrent des contours ronds,

(1) Il s'agit de bouillon Martin, gélatiné à 15 p. 100.

bien arrêtés : les autres (type en houppe), franchement blanches, floconneuses, à bords estompés, nuageux, mal limités, se développent toujours plus tard que les précédentes ; apparaissant d'abord dans les couches superficielles du milieu, elles peuvent se montrer ou non, ensuite, dans la profondeur. Certaines cultures, âgées de plusieurs semaines, présentent quelques colonies d'aspect encore différent, en *pinceau court* et en *bois de cerf*. Dans plusieurs cas, l'ensemencement en gélatine de colonies en houppe isolées a fourni seulement des colonies de même type.

L'aspect classique et caractéristique dit en brosse à bouteilles est loin de s'observer chez tous les échantillons, comme on sait déjà. En général le développement devient visible vers le troisième jour. Des colonies punctiformes, blanchâtres ou jaunâtres, s'échelonnent jusque dans la profondeur du milieu, suivant le trajet de la piqure. Dès cette époque on peut apercevoir quelques colonies en houppe, plus volumineuses, d'un blanc éclatant, mélangées avec les précédentes, en particulier dans le tiers supérieur de la gélatine. Les jours suivants, ces colonies en houppe apparaissent plus nombreuses, envahissant la couche profonde du milieu, mais leur développement est très variable suivant l'échantillon microbien observé. A la surface de la gélatine, végétation minime. Les cultures âgées de plusieurs semaines peuvent montrer un aspect général nuageux par coalescence des colonies.

Sérum équin coagulé. — Petites colonies non caractéristiques.

Pomme de terre. — Pas de culture visible.

CARACTÈRES BIOLOGIQUES.

Anaérobiose. — Tous les échantillons croissent aisément dans le vide. L'aspect des cultures, l'abondance, la réaction au tournesol sont sensiblement les mêmes que dans les tubes correspondants mis en présence de l'air. Nous avons pu faire de très nombreux passages dans le vide, sans que le pouvoir pathogène parût modifié.

Exigences thermiques. — Les échantillons étudiés se développent dans le bouillon Martin à l'air, à 42°.

Pouvoir saccharolytique. — Les cultures en bouillon Martin glucosé à 2 p. 1000 sont souvent plus abondantes qu'en bouillon

Martin simple ou additionné de liquide d'ascite. Même aspect à l'œil nu. La plupart des échantillons acidifient le milieu, alcalin au tournesol avant l'ensemencement. Les deux vaccins et plusieurs échantillons très peu pathogènes laissent le bouillon alcalin. Il serait intéressant de savoir si la baisse du pouvoir fermentatif est toujours parallèle à celle de l'action pathogène.

Pouvoir protéolytique (négatif). — Aucun échantillon ne liquéfie la gélatine ni le sérum coagulé. Tous se développent facilement dans le lait, sans modification visible du milieu.

Production d'H²S. — Pour tous les échantillons, les cultures en bouillon Martin à l'air dégagent une odeur d'H²S. Cette odeur s'observe plus rarement dans les cultures en bouillon Martin, additionné de liquide d'ascite; elle manque enfin si l'on s'adresse au bouillon glucosé et au lait.

Insolubilité dans la bile. — Tous les échantillons sont insolubles.

Action sur les hématies (nulle). — Plusieurs se sont montrés inactifs sur les hématies des espèces suivantes: cobaye, lapin, mouton, cheval, bœuf.

Vitalité. — Nous avons conservé facilement tous nos germes dans le bouillon Martin additionné de liquide d'ascite en ampoules scellées, à la glacière. Le premier repiquage fournit en général une culture à 37°, dès le lendemain; toutefois certains échantillons, en particulier peu pathogènes, peuvent ne pousser qu'après plusieurs jours. Le bacille du rouget est réputé pour sa résistance. Des tubes de bouillon Martin ensemencés avec l'échantillon pathogène Césari, scellés, et conservés dans l'étuve à 37°, nous ont fourni *après cinq ans*, sans aucune difficulté, de nouvelles cultures. (Voir le tableau ci-joint.)

RELATION ENTRE LE POUVOIR PATHOGÈNE ET CERTAINS CARACTÈRES.

Rappelons que les échantillons les moins pathogènes de notre collection (Rosenbach, Königsberg, Dourousseau, 1^{er} et 2^e vaccins) offrent en commun un ou plusieurs caractères :

1° Présence exclusive de formes longues et flexueuses dans les cultures (échantillon Königsberg) ou partielle (échantillon Rosenbach).

2° Abondance faible des cultures en bouillon Martin (échantillon Königsberg, Dourousseau, 1^{er} vaccin).

3° Aspect agglutiné de certaines cultures en bouillon Martin plus fréquemment encore en bouillon additionné de liquide d'ascite (Dourousseau, 1^{er} et 2^e vaccins).

Ces différents caractères sont intéressants à rassembler. Devons-nous ajouter que la présence d'un d'entre eux ne permettrait pas, le cas échéant, de prévoir régulièrement la baisse ou l'absence du pouvoir pathogène ?

POUVOIR PATHOGÈNE

Des cultures en bouillon Martin à 37°, âgées de vingt-quatre heures, ont été inoculées sous la peau de souris blanches (mâles de 15 à 20 grammes) ; dans le muscle pectoral de pigeons adultes ; sous la peau et dans les veines de lapins pesant 1 kilo et demi à 2 kilos.

Les animaux qui résistent ont toujours été observés pendant trois semaines au moins.

1° ACTION SUR LA SOURIS. — La plupart des échantillons tuent à doses très faibles (1/100.000 à 1/1.000.000 cent. cube de culture liquide). La survie n'est jamais inférieure à deux jours et peut atteindre treize jours ; on saisit la tendance du rouget à réaliser une maladie de longue durée. Les doses les plus fortes ne tuent pas toujours le plus vite. Si nous faisons cette remarque, c'est qu'on attache souvent une certaine importance à la durée de la survie dans de semblables expériences, au cours de l'étude du pouvoir pathogène, chez diverses familles microbiennes ; il est vraisemblable que la résistance d'une espèce animale à la même dose de virus varie suivant les sujets dans de larges limites ; on agira avec prudence, en pareil cas, en inoculant la même quantité de microbes à de nombreux animaux. Les deux vaccins pastoriens sont remarquablement actifs chez la souris, qu'ils font périr à la dose de 1/10.000.000 cent. cube.

Les souris qui succombent à l'infection manifestent de la somnolence ; certaines demeurent pendant plusieurs jours

immobiles, le poil hérissé, les paupières agglutinées par une sécrétion purulente. Après l'injection d'un échantillon peu virulent, une souris morte le deuxième jour a présenté de la tuméfaction douloureuse du coude.

| ÉCHANTIL- LONS | DOSES MORTELLES MINIMA | | | | |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| | SOURIS | | PIGEON | LAPIN | |
| | SOUS LA PEAU | DANS LES VEINES | SOUS LA PEAU | SOUS LA PEAU | DANS LES VEINES |
| Königsberg. | 1 c. c. inoffensif. | 1/4 c. c. inoffensif. | » | » | 1 c. c. inoffensif. |
| Rosenbach. | 1 c. c. inoffensif. | 1/2 c. c. Mort in- constante. | » | » | 1 c. c. cultures du sang et des organes négatives. |
| Durousseau. | Culot de 12 c. c. inof- fensif dans certaines expériences | » | 1 c. c. inoffensif. | » | 1 c. c. |
| 1 ^{er} vaccin . | 1/10.000.000 | » | 1/10 | » | 1/100 |
| 2 ^e vaccin . | 1/10.000.000 | » | 1/1.000 | 1/100 | mort in- constante. |
| Petit. . . | 1/1.000.000 | » | 1/100 | 1 c. c. lésion locale seulement. | 1/10.000 |
| Vanves. . . | 1/1.000.000 | » | 1/10.000 | » | 1/10.000 |
| Soulié . . . | 1/100.000 | » | 1/100.000 | 1 c. c. lésion locale seulement. | 1/10.000 |
| Césari . . . | 1/100.000 | » | 1/100.000 | 1 c. c. | 1/10.000 mort in- constante. |
| Rein I . . . | 1/1.000.000 | » | 1/100.000 | 1 c. c. | 1/1.000.000 |
| Rein II. . . | 1/100.000 | » | 1/1.000.000 | 1 c. c. lésion locale seulement. | 1/100.000 |

A l'autopsie, la rate apparaît presque toujours grosse ; le foie est de couleur rouge sombre ou rose saumoné et présente dans beaucoup de cas un aspect carrelé à sa surface ; les reins sont

rouge foncé ; la face profonde de la peau est souvent le siège d'un érythème. Les microbes pathogènes se montrent nombreux en général dans les frottis de rate, parfois rares ; une grande quantité de bactéries peut se rencontrer même dans les cas de longue survie, mais rien n'est constant à cet égard. Les frottis de rein présentent des germes nombreux ou non.

Ajoutons qu'on peut infecter quelquefois les souris *per os*, en les nourrissant avec des cadavres de souris mortes du rouget, ou en répandant des cultures sur leurs aliments. L'injection intraveineuse, pratiquée au niveau d'une des veines de la queue, paraît plus sévère que l'inoculation sous-cutanée.

2° ACTION SUR LE PIGEON. — La plupart des échantillons tuent le pigeon. Les doses mortelles minima s'échelonnent, suivant le cas, de 1/10 à 1/1.000.000 cent. cube. Quand l'animal succombe, c'est après deux jours et demi au plus tôt ; le 10^e jour a constitué le délai extrême que nous avons observé. Chez le pigeon, comme pour la souris, dose forte n'entraîne pas toujours mort la plus rapide. Celle-ci peut être précédée de frissons, d'une soif d'air manifeste, de mouvements respiratoires accélérés et irréguliers.

A l'autopsie, la rate est grosse ou a conservé son volume normal ; le foie présente souvent un aspect rouge sombre tacheté de jaune ; le péricarde peut contenir une petite quantité de liquide citrin ; au point inoculé, le muscle pectoral est le siège parfois d'un foyer jaunâtre nécrotique. Les bacilles du rouget sont en général nombreux, à l'examen microscopique, dans les frottis de sang cardiaque (germes intraleucocytaires), et dans ceux du foie et de la rate.

A l'égard du pigeon, la virulence des deux vaccins est moyenne ; le premier vaccin tue à la dose de 1/10 cent. cube ; le deuxième à celle de 1/1000 cent. cube.

3° ACTION SUR LE LAPIN. — Injectés dans les veines, beaucoup d'échantillons tuent le lapin, même à doses faibles (1/1000, 1/10.000, 1/100.000 cent. cube) ; par la même voie, il faut 1 cent. cube du premier ou du deuxième vaccin pour amener régulièrement la mort.

La survie varie entre un jour et demi et treize jours. Quatre jours constituent un délai assez fréquent. Chez le lapin, les morts

rapides succèdent de préférence à l'injection des fortes doses.

On peut observer la double conjonctivite catarrhale, parfois muco-purulente, de l'enchifrènement. Nous avons noté chez un animal la tuméfaction de la tête tibiale. La paraplégie se voit dans certains cas, et surtout l'émaciation chez les lapins qui survivent longtemps.

La mort peut succéder à une période de dyspnée, dans laquelle l'animal, couché sur le côté, exécute des mouvements de course avec ses membres antérieurs. A l'autopsie, on trouve la rate de volume normal ou exagéré, les poumons souvent congestionnés. L'examen microscopique montre de rares bacilles dans les frottis du sang cardiaque, du foie, de la rate ou même pas de germes : lesensemencements peuvent demeurer négatifs.

A noter l'influence capitale de la voie d'inoculation. — Plusieurs échantillons, dont l'injection intraveineuse amènerait la mort, ne font pas périr le lapin, s'ils sont injectés à des doses 10.000 fois plus élevées, sous la peau, et dans certains cas ne provoquent même aucune lésion locale. Exemple : l'échantillon Rein II : dose mortelle minimum par la voie veineuse de 1/10.000 cent. cube ; les lapins, ayant reçu 1 cent. cube de culture sous la peau, résistent.

L'injection sous-cutanée peut produire un empâtement rénitent ou ferme, puis une escarre noire : la sérosité que retire la ponction ne montre pas de germes à l'examen microscopique ni après l'ensemencement.

L'inoculation dans le foie, le rein, la cavité pleurale se montre plus sévère. La fréquence de la conjonctivite succédant aux injections faites par les voies les plus diverses est un fait à retenir.

*
* *

On connaît l'immunité du *cobaye* vis-à-vis du bacille du rouget. Nous avons vu cette espèce résister à l'inoculation intraveineuse du culot de 20 cent. cubes de culture.

Par contre le *calfat* semble très sensible. Il peut succomber avant le second jour, plus vite que la souris. A noter cependant que le *calfat* résiste parfois à l'injection d'un demi-centimètre cube dans le muscle pectoral, mais son emploi systématique serait intéressant pour des échantillons peu pathogènes.

*
* *

A un point de vue quantitatif, nos échantillons se présentent ainsi (voir le tableau ci-dessus) :

1° La plupart d'entre eux tue la souris, sous la peau, vers 1/1.000.000 cent. cube, le pigeon, dans les muscles, vers 1/100.000 cent. cube, le lapin dans les veines, vers 1/10.000 cent. cube. Pouvoir pathogène très accusé chez la souris et le pigeon ; à l'égard du lapin, il se manifeste avant tout par voie veineuse ;

2° Les deux vaccins pastoriens sont très pathogènes pour la souris, moyennement pour le pigeon, faiblement pour le lapin. Le deuxième vaccin se distingue surtout du premier par une plus grande activité vis-à-vis du pigeon ;

3° Classons à part trois échantillons peu ou nullement pathogènes.

L'échantillon Durousseau était arrivé à ne plus tuer la souris à la dose de 12 cent. cubes de culture (culot de centrifugation) sous la peau ; inoffensive également l'injection intraveineuse de 1 cent. cube. Le pigeon résistait à l'inoculation de 1 cent. cube dans les muscles, tandis que la même quantité, administrée dans les veines, tuait le lapin.

Pour l'échantillon Königsberg, à cultures d'ailleurs maigres, les doses de 1 cent. cube (sous la peau) et de 1/4 cent. cube (dans la veine) étaient inoffensives vis-à-vis de la souris.

Quant à l'échantillon Rosenbach, qui fournissait au contraire des cultures de richesse normale, il tuait le calfat, et amenait la mort de la souris à la dose de 1/2 cent. cube dans la veine, irrégulièrement.

4° VIRULENCE ET TOXICITÉ. — Qu'on observe avec attention le tableau anatomique et clinique réalisé par l'infection de chaque espèce animale, on sera amené à penser que le bacille du rouget manifeste chez la souris, le pigeon et le lapin, sa virulence et sa toxicité dans des proportions différentes.

Chez la souris, l'infection succède à l'inoculation sous-cutanée, encore mieux intraveineuse (cas de quelques échantillons exceptionnellement peu pathogènes), parfois à l'ingestion. Rareté des troubles d'ordre toxique. Microbes en général très nombreux à l'autopsie, même dans les cas de survie longue. Le bacille du

rouget manifeste surtout sa végétabilité *in vivo*, c'est-à-dire sa virulence.

Chez le lapin, cette dernière propriété se trouve dominée par la toxicité. La voie veineuse est souvent nécessaire pour tuer. Les symptômes d'origine toxique prédominent (amaigrissement, paraplégie); enfin des échantillons peu virulents ou avirulents d'une façon passagère (échantillon Durousseau) (1), peuvent tuer le lapin, dans la veine, les ensemencements du sang et des organes demeurant stériles.

Chez le pigeon, le bacille du rouget est souvent très pathogène, à la fois virulent (doses faibles mortelles, microbes nombreux à l'autopsie) et toxique (nécrose au foyer d'inoculation, cachexie lente, comme l'a observé autrefois M. M. Nicolle).

RELATION D'UN CAS DE ROUGET HUMAIN.

On admet en général que l'ingestion de viande de porc atteint de rouget est inoffensive pour l'homme. Lubowski a rapporté, il est vrai, le cas curieux et unique d'un enfant ictérique, dans les selles duquel il réussit à isoler le bacille du rouget.

D'autre part, des vétérinaires et employés d'abattoirs ont contracté une lymphangite généralement curable en maniant des cultures ou des viandes infectées. Nous avons pensé qu'il était intéressant de relater notre propre observation, où les symptômes sont analogues à ceux de diverses observations déjà connues (Mayer, Hildebrand, Casper, Schmuck, Hennig, Preisz, Rosenbach, Gleich, Gerdes, etc.).

Le 10 Juillet 1914, nous nous piquons accidentellement au dos du pouce avec une aiguille souillée de culture virulente. A noter que cette piqûre ne dépassait certainement pas les couches toutes superficielles de l'épiderme. L'échantillon de bacille du rouget en question était franchement virulent, tuant la souris à 1/100.000 cent. cube (au moins), le pigeon à 1/100.000 cent. cube (au moins), le lapin à 1/10.000 cent. cube (injection veineuse).

Le 11, 18 heures après le traumatisme, la région lésée est le siège, sur une étendue d'environ 1 cent. carré, d'un érythème légèrement douloureux. La gêne augmente rapidement pendant les heures qui suivent; la rougeur diffuse au niveau du dos du pouce et de l'éminence thénar, et dessine une traînée linéaire jusqu'à la moitié du bras. *Pansement humide.*

Le 12, la douleur s'atténue, mais la rougeur s'étend sur la face antérieure de l'avant-bras. Pas d'adénopathie épitrochléenne ni axillaire appréciable.

(1) Voir le tableau.

Le 13, la douleur a disparu; la rougeur se limite au pouce, qui montre même la trace de la piqûre, invisible jusqu'à ce jour.

A partir du 14, la plaque de lymphangite s'étend à nouveau autour de la piqûre. *Injection de 5 cent. cubes de sérum anti-rouget sous la peau de l'avant-bras gauche.*

Le 15, cette plaque déborde l'articulation métacarpo-phalangienne de 2 centimètres en haut, de 3 centimètres en bas; la peau, de coloration rose clair au centre, rouge sur les bords, est difficile à plisser et douloureuse à la pression (*voir la planche VII*).

Le 16, les dimensions de la plaque dépassent celle d'une pièce de 5 francs; elle empiète sur les faces latérales du pouce. Le cordon lymphangitique réapparaît à la face antérieure de l'avant-bras. Des ganglions axillaires sont douloureux. *Injection de 20 cent. cubes de sérum sous la peau de l'abdomen.*

Le 17, la plaque s'étend en bas jusqu'au milieu du dos de la phalange, en haut à 2 cent. 1/2 de l'apophyse styloïde radiale, et déborde largement les faces latérales du pouce; elle est violacée et indolore au centre, douloureuse et rouge au pourtour, pâle, de façon passagère après la pression. Le même jour, douleurs au niveau des membres inférieurs. *20 cent. cubes de sérum* sont injectés sous la peau de l'abdomen.

Le 18, œdème rouge étendu au pouce tout entier.

A partir du 19, les symptômes inflammatoires diminuent et disparaissent après quelques jours. En même temps débutent des accidents multiples d'origine sérique, qui dureront jusqu'aux premiers jours d'août: érythèmes variés, localisés au niveau des injections de sérum, puis généralisés, urticaire, adénite, prurit, fièvre, céphalée, arthralgies et phénomènes douloureux divers, œdèmes, fatigue persistante.

Le 27 juillet, avant que les accidents sériques soient terminés, s'observe au niveau du pouce une desquamation légère.

Cette lymphangite accidentelle ne s'est jamais accompagnée de fièvre bien accusée, en dehors de la fièvre sérique.

Le Gérant : G. MASSON.

